

UNIWERSYTET PEDAGOGICZNY

im. Komisji Edukacji Narodowej

**WYDZIAŁ GEOGRAFICZNO-BIOLOGICZNY
INSTYTUT BIOLOGII**

Zakład Fizjologii Roślin

PRACA DOKTORSKA

Katarzyna Możdżeń



**Wpływ składu spektralnego światła na wybrane
procesy fizjologiczne mchów w warunkach
stresu ozonowego**

Promotor: Prof. dr hab. Andrzej Skoczowski

Kraków 2016

*Składam serdeczne podziękowania Promotorowi
prof. dr hab. Andrzejowi Skoczowskiemu
za zaangażowanie, cenne uwagi i opiekę naukową,
a także za okazaną życzliwość i czas poświęcony
przy wykonywaniu i redagowaniu niniejszej pracy*

*Bardzo dziękuję Koleżankom i Kolegom, i wszystkim tym,
którzy w jakikolwiek sposób przyczynili się
do powstania tej rozprawy doktorskiej*

*Szczególne podziękowania składam Mamie i Siostrze
za cierpliwość, pomoc i wyrozumiałość
oraz nieustającą wiarę we mnie*

Autorka

*Część eksperymentalna pracy została wykonana w Instytucie Fizjologii Roślin
im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk w Krakowie*

SPIS TREŚCI

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW	6
1. WSTĘP	8
1.1. Stres środowiskowy	8
1.1.1. Czynniki wywołujące stres u roślin	8
1.1.2. Mechanizmy obronne roślin jako biologiczna odpowiedź na stres środowiskowy	9
1.2. Ozon jako czynnik stresowy	11
1.2.1. Wpływ ozonu troposferycznego na organizmy żywe	12
1.3. Światło jako czynnik środowiskowy.....	14
1.3.1. Fotoreceptory sygnału świetlnego.....	17
1.3.1.1. Receptor światła czerwonego i dalekiej czerwieni.....	17
1.3.1.2. Receptory światła niebieskiego.....	18
1.4. Ogólna charakterystyka obiektu badawczego.....	19
1.4.1. Budowa morfologiczna i cykl życiowy mchów	20
1.4.2. Budowa anatomiczna mchów	20
1.4.3. Morfologia a fizjologia mchów.....	21
1.5. Systematyka badanych gatunków mchów.....	22
1.6. Charakterystyka szczegółowa badanych gatunków	23
1.6.1. Płaskomerzyk (= płożymerzyk) kończysty (<i>Plagiomnium cuspidatum</i> (Hedw.) T.J.Kop.)	23
1.6.2. Złotowłos strojny (<i>Polytrichastrum formosum</i> (Hedw.) G.L.Sm.)	25
1.6.3. Rokietnik pospolity (<i>Pleurozium schreberi</i> (Willd. ex Brid.) Mitt.).....	26
1.7. Metody analizy instrumentalnej wykorzystane w odpowiedzi mchów na działanie ozonu w zróżnicowanym składzie spektralnym światła	28
1.7.1. Metody oceny stanu fizjologicznego roślin na podstawie parametrów kinetyki fluorescencji Chl <i>a</i>	28
1.7.1.1. Fluorescencja Chl <i>a</i>	28
1.7.1.1.1. Fluorymetry	29
1.7.1.1.2. Parametry kinetyki fluorescencji Chl <i>a</i> wykorzystywane do oceny sprawności fotochemicznej PSII	29
1.7.1.1.3. Zastosowanie parametrów kinetyki fluorescencji Chl <i>a</i> w fizjologii roślin	31
1.7.1.2. Spektrofluorymetria	32
1.7.1.3. Oznaczanie zawartości Flv i Chl oraz wskaźnika indeksu azotowego (NBI) jako wskaźników witalności roślin	33
1.7.2. Metoda kalorymetrii izotermicznej	34
1.7.3. Konduktometryczna ocena stanu fizjologicznego roślin.....	36
2. CEL PRACY.....	37

3. MATERIAL I METODY	39
3.1. Materiał roślinny	39
3.2. Aklimatyzacja roślin	40
3.3. Fumigacja ozonem	40
3.4. Morfometria roślin	43
3.4.1. Analiza biometryczna.....	43
3.4.2. Oznaczenia świeżej i suchej masy oraz procentowej zawartości wody	43
3.5. Pomiar przepuszczalności błon plazmatycznych w gametoforach mchów.....	43
3.6. Pomiary zawartości Chl, Flv i NBI.....	44
3.6.1. Oznaczanie zawartości Chl (metoda Barnes).....	44
3.6.2. Oznaczanie zawartości Chl, Flv i wyznaczenie wskaźnika NBI (Dualex®)	44
3.7. Pomiar fluorescencji Chl <i>a</i> przy użyciu fluorometru – fluorcam.....	45
3.8. Pomiar aktywności metabolicznej metodą kalorymetrii izotermicznej	45
3.9. Pomiar widm emisji fluorescencji niebiesko-zielonej i czerwonej liści mchów.....	46
3.10. Oznaczanie izoform SOD u <i>Plagiomnium cuspidatum</i>	47
3.10.1. Ekstrakcja białka całkowitego.....	47
3.10.2. Analiza rozdziału białek metodą elektroforezy natywnej na żelach poliakrylamidowych PAGE SOD	47
3.11. Analiza statystyczna.....	47
4. WYNIKI.....	48
4.1. Wpływ składu spektralnego światła na morfologię mchów w warunkach stresu ozonowego – analiza morfometryczna.....	48
4.2. Wpływ składu spektralnego światła na przyrost masy i uwodnienie gametofitów mchów w warunkach stresu ozonowego.....	50
4.3. Pomiar przepuszczalności błon komórkowych gametoforów mchów	51
4.4. Określenie zawartości Chl w gametoforach mchów (metoda Barnes).....	53
4.5. Pomiar zawartości Chl, Flv oraz wskaźnika NBI w gametoforach mchów (Dualex®)...	55
4.6. Pomiary parametrów kinetyki fluorescencji Chl <i>a</i>	57
4.7. Intensywność przebiegu procesów metabolicznych	60
4.7.1. Wyznaczenie krzywych specyficznej mocy cieplnej wyemitowanej przez gametofity mchów	60
4.7.2. Pomiar całkowitej specyficznej energii cieplnej wyemitowanej przez gametofity mchów	64
4.8. Pomiary niebiesko-zielonej i czerwonej fluorescencji liści mchów	65
4.8.1. Wyznaczanie widm fluorescencji niebiesko-zielonej i czerwonej.....	65
4.8.2. Współczynniki fluorescencji według Schweigera i in. [1996].....	70
4.8.3. Intensywność fluorescencji PSII i PSI według Jena i in. [2012].....	73
4.9. Oznaczanie izoform SOD i ich aktywności u <i>Plagiomnium cuspidatum</i>	76
5. DYSKUSJA.....	78

5.1. Rola składu spektralnego światła w warunkach stresu ozonowego w procesie wzrostu i rozwoju mchów	80
5.2. Wpływ składu spektralnego światła na destabilizację błon komórkowych gametoforów mchów podczas fumigacji ozonem	84
5.3. Wpływ składu spektralnego światła na zawartość Chl, Flv i wskaźnika NBI w warunkach stresu ozonowego	85
5.4. Sprawność fotosyntetyczna mchów	88
5.5. Intensywność przebiegu procesów metabolicznych mchów	92
5.6. Niebiesko-zielona i czerwona fluorescencja liści mchów	93
5.7. Aktywność SOD gametoforów <i>Plagiomnium cuspidatum</i>	97
6. WNIOSKI	99
7. BIBLIOGRAFIA	101
8. SPIS TABEL	125
9. SPIS RYCIŃ	126
10. STRESZCZENIE	128
11. ABSTRACT	130

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

Chl	chlorofil
Chl <i>a</i>	chlorofil <i>a</i>
Chl <i>b</i>	chlorofil <i>b</i>
Chl <i>a + b</i>	suma zawartości Chl <i>a</i> i <i>b</i>
Chl <i>a/b</i>	stosunek zawartości Chl <i>a</i> do <i>b</i>
DMSO	sulfotlenek dimetylu (z <i>ang. dimethyl sulfoxide</i>)
DTT	ditiotreitol (z <i>ang. dithioeritol</i>)
EDTA	kwas wersenowy (z <i>ang. ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
F₀	fluorescencja zerowa
F_m	fluorescencja maksymalna
F_t	fluorescencja stacjonarna
F_v	fluorescencja zmienna
F_v/F_m	maksymalna wydajność fotochemiczna PSII
F440	intensywność fluorescencji przy 440 nm (fluorescencja niebieska)
F530	intensywność fluorescencji przy 530 nm (fluorescencja zielona)
F595	intensywność fluorescencji przy 595 nm (fluorescencja pomarańczowa)
F690	intensywność fluorescencji przy 690 nm (fluorescencja bliskiej czerwieni)
F735	intensywność fluorescencji przy 735 nm (fluorescencja dalekiej czerwieni)
F440/F530	stosunek intensywności fluorescencji niebieskiej do zielonej
F440/F690	stosunek intensywności fluorescencji niebieskiej do bliskiej czerwieni
F440/F735	stosunek intensywności fluorescencji niebieskiej do dalekiej czerwieni
F595/F530	stosunek intensywności fluorescencji pomarańczowej do zielonej
F690/F735	stosunek intensywności fluorescencji bliskiej do dalekiej czerwieni
Flv	flawonoidy
NBI	wskaźnik indeksu azotowego
NIR	bliska czerwień (z <i>ang. Near Infrared</i>)
NPQ	wygaszanie nefotochemiczne
PAR	promieniowanie fotosyntetycznie czynne (z <i>ang. Photosynthetic Active Radiation</i>)
P_i	reszta kwasu ortofosforowego (fosforan nieorganiczny)
PSI	fotosystem I
PSI-A	intensywność fluorescencji fotosystemu I (PSI) w części antenowej (A)

PSI-C	intensywność fluorescencji fotosystemu I (PSI) w części korowej (C)
PSII	fotosystem II
PSII-A	intensywność fluorescencji fotosystemu II (PSII) w części antenowej (A)
PSII-C	intensywność fluorescencji fotosystemu II (PSII) w części korowej (C)
Qp	wygaszanie fotochemiczne
QY	wydajność reakcji fotochemicznej w PSII
Rfd	wskaźnik witalności PSII
RFT	reaktywne formy tlenu (z ang. <i>ROS - Reactive Oxygen Species</i>)
RGBL	światło czerwono-zielono-niebieskie (z ang. <i>Red Green Blue Light</i>)
SDS	siarczan dodecyłu sodu (z ang. <i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>)
SM	sucha masa
SOD	dysmutaza nadadtlenkowa (z ang. <i>Superoxide Dismutase</i>)
ŚM	świeża masa
UV	promieniowanie ultrafioletowe
WBL	światło biało-niebieskie (z ang. <i>White Blue Light</i>)
WL	światło białe (z ang. <i>White Light</i>)

1. WSTĘP

1.1. Stres środowiskowy

Rośliny, w odróżnieniu od zwierząt, odznaczają się pozorną biernością wobec otaczającego je środowiska. W rzeczywistości dysponują jednak całym arsenałem środków umożliwiającym im przetrwanie w najbardziej niekorzystnych warunkach środowiska. W naturze nie istnieją bowiem idealne warunki, które całkowicie eliminowałyby niekorzystne dla roślin bodźce natury fizycznej lub chemicznej, zwane czynnikami stresowymi.

Słowo „**stres**” pochodzi od łacińskiego słowa „*stringere*” oznaczającego wymuszanie reakcji [Kacperska, 2012], które w przypadku roślin jest bardzo różnie definiowane. W XX wieku pojęcie stresu wprowadził Hans Hugon Selye określając stres jako niespecyficzne reakcje żywych organizmów na stawiane im specyficzne żądania. W książkach pt. „*The Stress of life*” [1956] i „*Stres okielznany*” [1975] pojęcie stresu zdefiniował on jako syndrom ogólnej aklimacji do danych warunków środowiska.

W oparciu o prawo Shelforda, stres określany jest jako wymuszanie reakcji organizmu przez czynniki środowiskowe znajdujące się poza optymalnym przedziałem ich natężenia. Według Levitta [1980], stres środowiskowy jest czynnikiem ogólnie niekorzystnym dla organizmu. Larcher i Biederman-Thorson [1983] pisali o stresie jako o stanie, w którym wzrastające wymagania środowiska względem rośliny prowadzą do destabilizacji jej funkcjonowania, po której następuje jej normalizacja i nabycie odporności. Szweykowska [1997] natomiast uważa, że stres wywołuje u roślin pewien stan „napięcia”. Z kolei Starck i in. [1995] oraz Kacperska [2012] mianem stresu określają odmienny stan organizmu wywołany działaniem czynnika stresowego, a Lichtenthaler [1996] definiuje stres jako brak tolerancji i możliwości aklimacyjnych do zaistniałych warunków środowiska.

1.1.1. Czynniki wywołujące stres u roślin

Czynniki środowiska, określane mianem czynników stresowych, modyfikują intensywność procesów życiowych i zaburzają ich przebieg powodując okresową lub nieodwracalną destabilizację na każdym etapie rozwoju [Lichtenthaler, 1996; Kacperska, 2012]. Według Goldsteina i Fersona [1994], rośliny narażone są jednocześnie

na działanie wielu czynników stresowych tworzących zespół tzw. multistresorów. Zagrożenia wynikają z oddziaływania abiotycznych i biotycznych czynników środowiska. Za abiotyczne czynniki stresowe uważa się wszystkie czynniki natury fizycznej lub chemicznej i te nie będące pochodzenia biologicznego. Do takich czynników zaliczyć można za niskie lub za wysokie natężenie promieniowania świetlnego w zakresie promieniowania fotosyntetycznie czynnego (PAR), podwyższone natężenie promieniowania ultrafioletowego (UV), za niskie lub za wysokie temperatury, niedobór lub nadmiar wody, skład chemiczny powietrza, wiatr, a nawet stres mechaniczny związany z oblodzeniem czy pokrywą śnieżną. Stresy biotyczne wynikają z szeroko pojętej patogenezы, konkurencji allelopatycznej roślin pomiędzy sobą, a także z deptania i pogryzania będącego efektem presji roślinożerców.

Niekorzystne działanie abiotycznych i biotycznych czynników środowiska zachodzi na poziomie molekularnym, komórkowym, tkankowym, a w konsekwencji wpływa na funkcjonowanie całego organizmu. Czynniki stresowe środowiska wpływają na zmiany biochemiczne, fizjologiczne i morfologiczne roślin. Utrudniają m.in. prawidłowy wzrost i rozwój roślin, obniżają ich jakość i plonowanie, naruszają integralność komórek, tkanek czy organów, powodują zaburzenia hormonalne, blokują transport wody, soli mineralnych i związków organicznych oraz indukują stres oksydacyjny [Kozłowska, 2007]. W swoich pracach Bohnert i in. [1995] oraz Starck [1998, 2002] twierdzą, że stopień uszkodzenia roślin zależy od właściwości, natężenia i czasu działania czynnika stresowego, które decydują o odwracalnych lub nieodwracalnych uszkodzeniach organizmu [Levitt, 1980; Jackson i Black, 1993; McKersie i Leshem, 1994].

1.1.2. Mechanizmy obronne roślin jako biologiczna odpowiedź na stres środowiskowy

Rośliny, podobnie jak inne żywe organizmy, reagując na stres środowiskowy uruchamiają mechanizmy obronne sprzyjające unikaniu stresorów. Przykładem są swoiste przystosowania morfologiczne, utrudniające lub uniemożliwiające wnikanie czynników stresowych do organów, tkanek i komórek [Starck i in., 1995; Kacperska, 2012]. W sytuacji, gdy mechanizmy te są niewystarczające, aktywowane są mechanizmy fizjologiczne, metaboliczne i genetyczne w celu zneutralizowania negatywnego oddziaływania czynników stresowych [Woźny i Przybył, 2004].

W odpowiedzi organizmu roślinnego na stres Kacperska [2012] oraz Lewak i Kopcewicz [2009] wyróżniają tzw. *syndrom reakcji stresowej*, na który składa się kilka faz. W pierwszej fazie, tzw. *fazie alarmu*, stresor wywołuje destabilizację strukturalną i funkcjonalną procesów życiowych niezbędnych do właściwego funkcjonowania organizmu. Gwałtowne zmiany prowadzą do zaburzenia integralności komórek i trwałych uszkodzeń. Zapoczątkowane zostają reakcje, w których dochodzi do zakłócenia m.in. gospodarki jonowej, bilansu energetycznego oraz następują zmiany ilościowe i jakościowe w podstawowych procesach metabolicznych. Jeśli natężenie stresora nie jest zbyt silne a organizm jest w stanie uruchomić alternatywne drogi metaboliczne, to zostają aktywowane procesy naprawcze lub obronne *fazy restytucji*. W rezultacie stanowi to początek kolejnej odpowiedzi roślin na stres, określanej *fazą odporności*, w której zachodzi hartowanie, czyli aklimatyzacja.

Aklimatyzacja dotyczy powstawania niedziedziczonych zmian struktury i funkcji organizmu, które zmniejszają uszkodzenia wywołane działaniem stresora. Pozwala ona na zminimalizowanie uszkodzeń i dostosowanie się organizmu do aktualnie panujących warunków środowiska. Tego rodzaju przemiany wiążą się z dużymi wydatkami energii i metabolitów na przebudowę struktur oraz uzyskanie właściwej odporności. W fazie aklimatyzacji zwiększa się stabilność i równowaga organizmu, co umożliwia dostosowanie się rośliny do otaczającego ją środowiska. Wzrost intensywności stresu lub długi czas jego działania przyczynia się do nieodwracalnych uszkodzeń organizmu, czyli uruchomienia *fazy wyczerpania*.

Odporność roślin na określone czynniki stresowe zależy od uwarunkowań genetycznych, zdolności naprawczych, regeneracji oraz zdolności przystosowawczych do środowiska. Uwarunkowania genetyczne określane jako odporność konstytutywna, wynikają z programu genetycznego danej komórki i decydują o wrażliwości lub odporności na działanie stresora. Uruchamiane po ustąpieniu stresu procesy naprawcze umożliwiają regenerację zniszczonych komórek, tkanek czy organów roślin. Zdolności przystosowawcze obejmują procesy wspomnianego wyżej hartowania (aklimatyzacji) i adaptacji roślin. Adaptacja w przeciwieństwie do aklimatyzacji polega na powstawaniu dziedzicznych zmian w strukturze i funkcjonowaniu organizmu w wyniku przemian ewolucyjnych, jako efekt mutacji.

Istotny wpływ na homeostazę organizmu mają procesy oksydoredukcyjne, które zapobiegają uaktywnianiu reaktywnych form tlenu (RFT) m.in. anionorodnika nadadtlenkowego ($O_2^{\cdot-}$), tlenu singletowego (1O_2), nadtlenu wodoru (H_2O_2) i rodnika

hydroksylogowego (OH^\cdot). W zależności od nasilenia i czasu działania, niekorzystne czynniki środowiska (m.in. za wysokie i za niskie nasłonecznienie, zbyt wysokie stężenie ozonu) przyczyniają się do intensyfikacji procesów utleniania i powstawania wolnych rodników. Obroną przed groźnym rodnikiem hydroksylogowym jest usuwanie jego prekursorów – anionorodnika ponadtlenkowego przez dysmutazę anionorodnikową ponadtlenkową (SOD), nadtlenu wodoru oraz enzymów szlaku glutationowo-askorbinianowego przez katalazy, peroksydazy, reduktazę glutationową i askorbinianową, dehydrogenazę askorbinianową oraz związki niskocząsteczkowe (kwas askorbinowy, glutation, α -tokoferol, cysteinę i karotenoidy) [Scandalios, 2005].

SOD jest kluczowym enzymem katalizującym reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego, w wyniku której powstaje nadtlenek wodoru i tlen. Enzym ten występuje u roślin w trzech formach, w zależności od zawartego w nich kofaktora. Są to: forma miedziowo-cynkowa (Cu/ZnSOD), manganowa (MnSOD) i żelazowa (FeSOD). Cu/ZnSOD jest ewolucyjnie najmłodszym białkiem w tej rodzinie. W postaci homodimeru występuje w cytoplazmie i peryplazmie, a jako homotetramer w chloroplastach oraz apoplazmie. Jest białkiem odpornym na działanie czynników fizycznych i chemicznych m.in. mocznika, wysokiej temperatury czy chlorku guanidyny. Inhibycyjnie wpływa na nią nadtlenek wodoru i cyjanki. MnSOD występuje w mitochondriach i peroksysomach – nie wykazuje wrażliwości na cyjanki i nadtlenek wodoru. Najprymitywniejszym typem SOD jest forma FeSOD, która występuje w komórkach prokariotycznych oraz w stromie chloroplastów komórek eukariotycznych. Jej aktywność zależy od odczynu pH środowiska i obniża się wraz ze wzrostem jego wartości powyżej 7. W porównaniu do dwóch pozostałych form, przeprowadza ona najwolniej dysmutację anionorodnika i jest inaktywowana przez nadtlenek wodoru.

Reasumując, strategią umożliwiającą przetrwanie niekorzystnych warunków środowiska jest dążenie organizmu roślinnego do kompromisu pomiędzy produkcją a walką o przeżycie. Dlatego też, badania związane z poznaniem mechanizmów obronnych roślin na stresy środowiskowe są od lat przedmiotem zainteresowań wielu fizjologów roślin.

1.2. Ozon jako czynnik stresowy

Atmosfera ziemską określaną często „gazowym płaszczem Ziemi” składa się w 78 % z azotu, w 21 % z tlenu, w 0,95 % z argonu oraz pary wodnej i tzw. gazów śladowych, w tym m.in. ozonu. Ozon, mimo znikomej koncentracji, wykazuje decydujący wpływ na

wiele procesów chemicznych i fizycznych zachodzących w atmosferze, a przede wszystkim kształtuje klimat na Ziemi [Akimoto, 2003]. Gaz ten, określany mianem fotooksydantu, występuje we wszystkich warstwach atmosfery, ale głównie gromadzi się w stratosferze i w troposferze. W stratosferze stanowi nieodzowny składnik ochrony życia na Ziemi w postaci bariery przed szkodliwym dla organizmów żywych promieniowaniem UV. W troposferze jego nadmiar stanowi zanieczyszczenia środowiska. W górnych warstwach troposfery ozon powstaje regularnie i wolno, a w warstwach dolnych jego koncentracja zależy od ilości docierającego światła słonecznego, warunków klimatycznych, stężenia zanieczyszczeń m.in. metanu, dwutlenku węgla czy lotnych węglowodorów, które reagują z innymi lotnymi zanieczyszczeniami tj. tlenki azotu (NO_x) [Makles i Galwas-Zakrzewska, 2004; Sitch i in., 2007]. Współcześnie jego aktywność rośnie niejednorodnie w skali globalnej z roku na rok o około 0,5 – 2 % (od 20 do 45 ppb) [Clymo, 1998; Vingarzan, 2004].

Stężenie ozonu w klimacie umiarkowanym wzrasta przy gruncie wraz ze wzrostem temperatur powietrza z końcem kwietnia i z reguły utrzymuje się na takim poziomie przez całe lato. Najwyższe wartości stężeń ozonu odnotowywane są najczęściej w warunkach ograniczających wymianę powietrza, a niższe przy wzmożonej jego cyrkulacji. Na zawartość ozonu wpływa zatem ukształtowanie terenu, a także bliskość zanieczyszczeń. Największe fluktuacje w stężeniu ozonu zachodzą w dolinach oraz w pobliżu gór, które w różnych porach dnia zatrzymują przepływ wiatrów kumulując powietrze w dużym stopniu nasycone ozonem. W rejonach nizinnych ozon ulega szybszemu rozpadowi niż na terenach wyżej położonych. Stężenie ozonu zmienia się również w ciągu doby. W nocy, przy braku promieniowania słonecznego niezbędnego do jego syntezy, jest niskie a najwyższe w ciągu dnia w godzinach od 12 do 16 [Caballero i in., 2015]. W zależności od stopnia zanieczyszczenia danego terenu i warunków klimatycznych obciążenia ozonem mogą być lokalne, regionalne lub ponadregionalne. Lokalnej i regionalnej koncentracji ozonu sprzyja wysoka temperatura, silne promieniowanie słoneczne, długi dzień, mały ruch powietrza oraz bezchmurne niebo [Kurpius i in., 2002].

1.2.1. Wpływ ozonu troposferycznego na organizmy żywe

Ozon troposferyczny jest trujący dla organizmów żywych i dzięki właściwościom absorbowania promieni podczerwonych przyczynia się do intensyfikowania „efektu

szklarniowego”. Szczególnie wrażliwe na działanie ozonu są rośliny, u których (w zależności od jego stężenia, czasu oddziaływania oraz innych czynników środowiska) następują uszkodzenia o charakterze utajonym, chronicznym lub ostrym [Musselman i in., 2006; Tausz i in., 2006]. Szkody utajone obejmują zmiany w procesie fotosyntezy i wytwarzania węglowodanów. Uszkodzenia chroniczne powodują zmiany morfologiczne i fizjologiczne w postaci chloroz, zaburzeń wzrostu i zniekształceń liści [Zhang i in., 2014]. Przejawem uszkodzeń ostrych są liczne i drobne przebarwienia w postaci nieregularnych plamek o różnej pigmentacji, przedwczesne opadanie oraz międzynerwowa martwica liści [Feng i in., 2014]. Efektem działania ozonu jest zahamowanie wzrostu, zwiększona podatność na patogeny i szkodniki, zmniejszona odporność na mróz i suszę oraz przedwczesne starzenie [Olszyk i in., 2001; Fiscus i in., 2005; Felzer i in., 2007; Gomez-Garay i in., 2013].

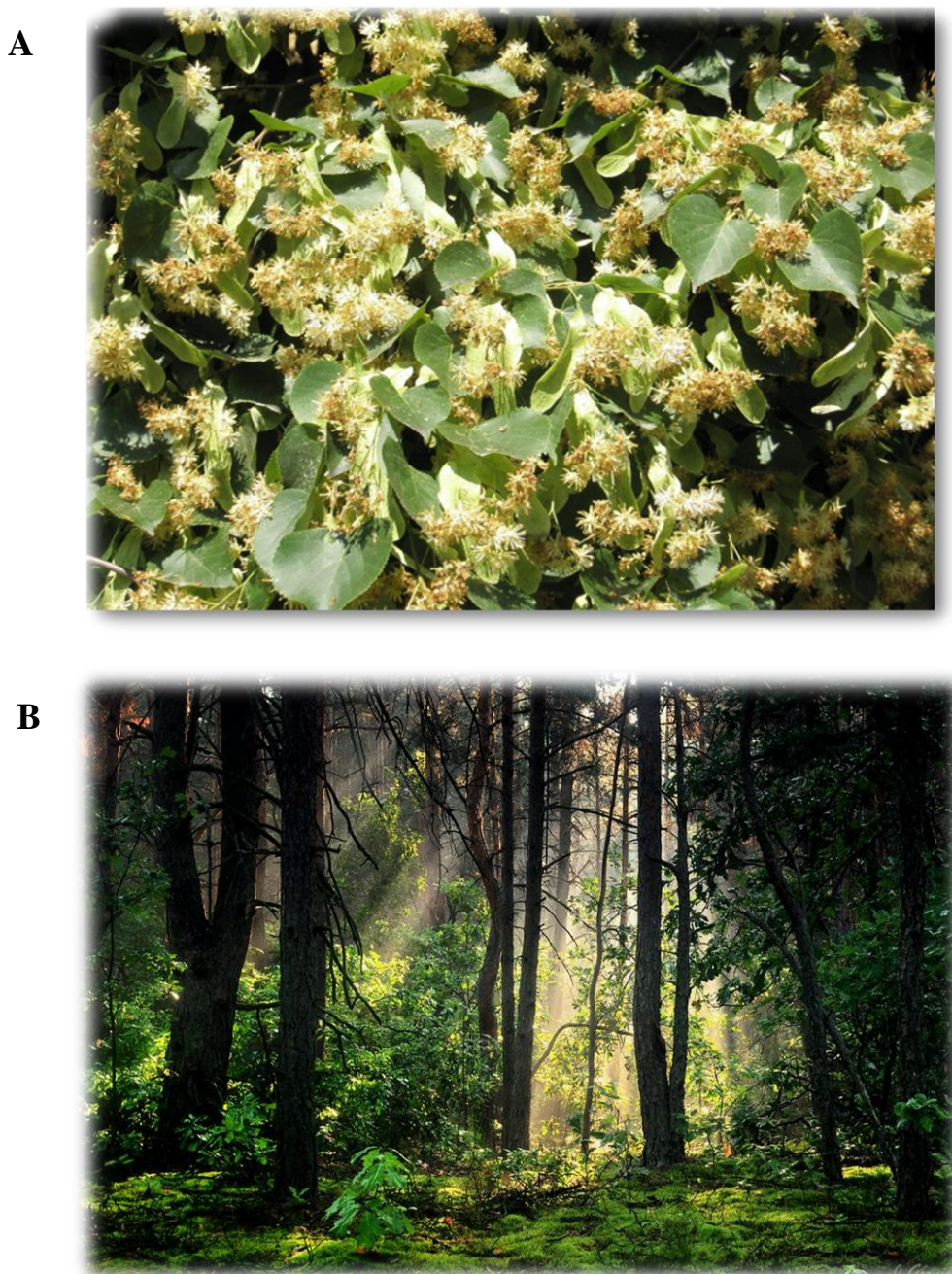
Na poziomie fizjologicznym działanie ozonu powoduje zaburzenia w procesach fotosyntezy i oddychania oraz zwiększa aktywność układu antyoksydacyjnego [Reich, 1983; Reich i Amundson, 1985; Utrainen i Holopainen, 2000; Bytnerowicz i in., 2004]. Ponadto obniża zawartość chlorofilu (Chl) [Chappelka i in., 1999], prowadzi do niedoboru substancji mineralnych [Schmieden i Wild, 1995; Utrainen i Holopainen, 2000] oraz do zmian zawartości wody w ekosystemach [Sun i in., 2012; Bingham i Porter, 2015]. Przyspiesza też starzenie się liści i zmniejsza ich żywotność [Stow i in., 1992; Pell i in., 1999; Skelly i in., 1999] oraz redukuje wzrost i produktywność roślin [Manning, 2005; Karnosky i in., 2006; Feng i in., 2010]. Wzrastające stężenie ozonu bezpośrednio zagraża nie tylko roślinom, ale całej przestrzeni życiowej na Ziemi [Godzik i Grodzińska, 2002; Mills i in., 2011]. Jak wynika z danych literaturowych, przed rozwojem przemysłu, stężenie ozonu przy powierzchni wynosiło średnio 10 ppb, a obecnie osiąga wartości od 30 do 50 ppb, z tendencją wzrostową – od północy w kierunku południa i z zachodu na wschód [Seinfeld, 1989; Akimoto, 2003]. Obecnie około 25 % powierzchni Ziemi znajduje się w strefie, w której stężenie ozonu w okresie letnim przekracza $60 \text{ nmol} \cdot \text{mol}^{-1}$, a lokalnie osiąga nawet wyższe wartości [Fowler i in., 1999]. Ze względu na dużą dysproporcję pomiędzy ilością ozonu stratosferycznego i troposferycznego, nie jest możliwe zbilansowanie nadmiaru ozonu powierzchniowego z niedoborem ozonu stratosferycznego [Vockenhuber, 1995].

1.3. Światło jako czynnik środowiskowy

Jednym z najważniejszych czynników środowiskowych wpływających na rośliny jest światło, które dostarcza roślinie licznych informacji o otaczającym ją środowisku. W środowisku naturalnym promieniowanie słoneczne jest bardzo skomplikowanym i dynamicznie zmieniającym się sygnałem [Strzałka, 1998]. Światło jest podstawowym źródłem energii niezbędnym do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin, częściowo odbijanym, rozpraszającym oraz pochłanianym przez atmosferę ziemską [Öpik i Rolfe, 2005].

W warunkach naturalnych nigdy nie mamy do czynienia z jednorodnym oświetleniem. O różnorodności i ilości światła docierającego do powierzchni Ziemi decyduje wysokość Słońca nad horyzontem, położenie geograficzne, gęstość i rozmieszczenie warstw chmur, czystość atmosfery oraz inne czynniki środowiska [Kopcewicz i in., 1992; Płochocki, 2003]. Z całego spektrum promieniowania słonecznego do Ziemi dociera tylko niewielki jego procent w postaci światła widzialnego. Filtratorami widma światła słonecznego są m.in. stratosferyczna warstwa ozonu pochłaniająca promieniowanie UV, dwutlenek węgla i woda pochłaniające promieniowanie podczerwone, gleba oraz pokrywa roślinna, która pośredniczy w zacienianiu jednych roślin przez drugie.

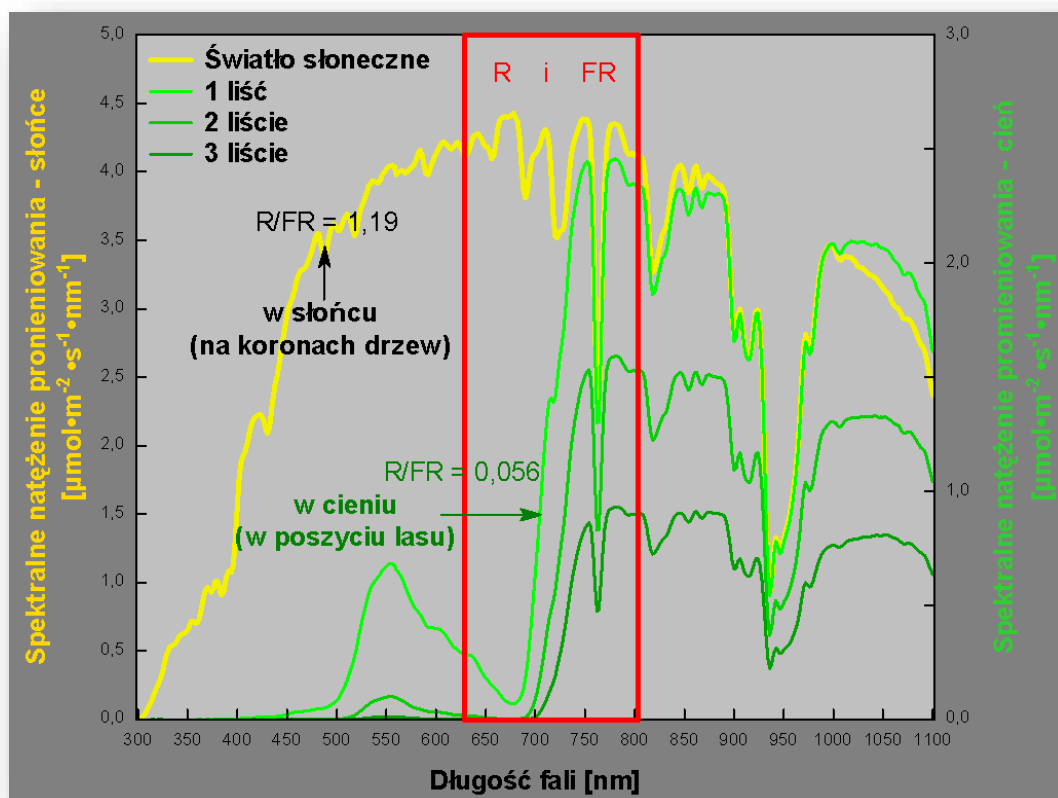
W naturalnym środowisku ilość światła docierającego do roślin jest bardzo zróżnicowana przez co jedne rośliny narażone są na cień, a inne na nadmierne nasłonecznienie [Smith i Whitelam, 1997]. Ponadto filtrowanie promieni słonecznych przez poszczególne warstwy listowia powoduje, że całe rośliny lub ich organy rosną w zróżnicowanym składzie spektralnym światła. W odpowiedzi na skład spektralny światła dochodzi do zmian kształtu roślin, ich budowy morfologicznej oraz przebiegu procesów fizjologicznych [Casal, 2012]. Na przykład liście znajdujące się na zewnątrz korony drzew, przez większą część dnia, mają swobodny dostęp do światła słonecznego. Liście w głębi są oświetlane intensywnym światłem tylko przez krótki czas, ponieważ przez większą część dnia są zacienione, a tym samym wystawione na działanie słabego oświetlenia. Liście poruszane wiatrem, w różnych porach dnia i roku, zmieniając swoje położenie jednocześnie zmieniają kąt padania promieni słonecznych, który wpływa na różnice w szybkości przekazywania energii świetlnej do danego punktu. W związku z tym warunki świetlne nawet w obrębie jednej rośliny są bardzo zróżnicowane (Ryc. 1A) [Strzałka, 1998].



Ryc. 1. Zróżnicowane warunki świetlne w obrębie pojedynczej rośliny [A – fot. A. Skoczowski] oraz w układzie fitocenotycznym [B – źródło: www.google.pl].

W układach fitocenotycznych, wysokość rośliny w stosunku do sąsiadujących z nią innych roślin określa w dużym stopniu ilość i jakość (skład spektralny) otrzymywanego światła (Ryc. 1B). Na przykład w lesie zawsze korony najwyższych drzew otrzymują światło o pełnym składzie spektralnym, począwszy od światła fioletowego przez niebieskie, czerwone i daleką czerwień. Do roślin rosnących w niższych piętrach lasu dociera światło słabsze, nie tylko o innym natężeniu, ale o zupełnie innym składzie spektralnym. Do dna lasu dociera niewielka ilość światła

niebieskiego i czerwonego, natomiast duża ilość światła dalekiej czerwieni (Ryc. 2) [Kwak i in., 2011; Casal, 2012; Pilarski i in., 2012]. Zróżnicowanie w oświetleniu wynika ze struktury i budowy lasu, drogi przenikania światła, kąta padania promieni słonecznych, warunków pogodowych, pory roku, miesiąca czy nawet dnia [Endler, 1993; Tretyn, 1998; Théry, 2001; Pilarski i in., 2012]. Generalnie w ekosystemach leśnych i na terenach nizinnych przeważa światło rozproszone, a w górach i na terenach stepowych bezpośrednie.



Ryc. 2. Wpływ zacienienia na zmiany składu spektralnego światła słonecznego [według Pilarskiego i Skoczowskiego].

Redukcja światła przez okap roślinny nie jest jednym czynnikiem środowiskowym, ale zespołem czynników, które wpływają jednocześnie na zmiany temperatury, intensywności wiatru, wilgotności względnej powietrza oraz gleby. W związku z tym, wszystkie procesy życiowe, począwszy od kiełkowania, poprzez rozwój wegetatywny, generatywny aż po starzenie roślin, wykazują zależność od światła [Strzałka, 1998; Franklin i Whitelam, 2005; Hetmann i Kowalczyk, 2011; Keller i in., 2011; Kopcewicz, 2012; Kusior i in., 2012; Kirchhoff, 2014].

1.3.1. Fotoreceptory sygnału świetlnego

Absorpcja promieniowania słonecznego w zakresie PAR 400 – 700 nm, odbieranego przez roślinę, stanowi jedynie 40 – 50 % całego światła docierającego do Ziemi. Pozostałe 50 – 60 % obejmuje promieniowanie UV, podczerwone oraz daleką czerwień. Energia świetlna docierająca do liści jest pochłaniania w kompleksach antenowych przez barwniki fotosyntetyczne: chlorofile, które absorbują promieniowanie w zakresie niebieskim i czerwonym, karotenoidy – w zakresie niebieskim i fioletowym, a także fikobiliny, których maksima absorpcji mieszczą się w zakresie 490 – 650 nm.

1.3.1.1. Receptor światła czerwonego i dalekiej czerwieni

Receptorem bliskiej i dalekiej czerwieni jest dimeryczna, rozpuszczalna w wodzie chromoproteina zwana fitochromem (*gr. Phytos* – roślina, *chroma* – barwa). Receptor ten składa się ze zmiennej części białkowej – podjednostek polipeptydowych o masie 121 – 129 kDa łączących się końcami C za pomocą wiązań jonowych i hydrofobowych oraz ze stałej grupy chromoforowej (fitochromobiliny o zabarwieniu niebieskim) przyłączonej do reszty cysteinowej na końcu N [Kopcewicz i in., 1992; Lewak i Kopcewicz, 2009]. Fitochrom występuje w dwóch fotoodwracalnych formach molekularnych różniących się właściwościami spektralnymi: w konformacji nieaktywnej fizjologicznie – P_R (z *ang. Phytochrome Red*) i aktywnej – P_{FR} (z *ang. Phytochrome Far-Red*). Pierwsza forma dominuje u roślin rosnących w ciemności i wykazuje maksimum absorpcji w zakresie światła czerwonego (660 nm). Druga zaś, występuje u roślin poddawanych działaniu światła i wykazuje maksimum absorpcji w zakresie dalekiej czerwieni (730 nm). W warunkach naturalnych, w zależności od dostępności światła, obie formy współdziałają ze sobą ulegając fotokonwersji, czyli przechodzeniu jedna w drugą. Forma P_R, pochłaniając światło czerwone przekształca się w podlegającej szybkiej destrukcji formę P_{FR}. I odwrotnie, P_{FR} po pochłonięciu światła dalekiej czerwieni przekształca się ponownie w P_R [Kopcewicz i in., 1992]. U roślin rosnących na świetle, oprócz fitochromu wrażliwego na działanie światła, występuje pula fitochromu P_{FR}, która jest oporna na degradację. Obie formy fitochromu absorbują światło czerwone, a daleką czerwień pochłania tylko aktywna forma P_{FR}. Ilość fitochromu aktywnego do nieaktywnego fizjologicznie określa się poprzez wartość stosunku R : FR, a precyzyjniej: jako stosunek natężenia fotonów między 660 i 670 nm do natężenia fotonów 725 i 735 nm.

Fitochrom występuje w cytoplazmie, chloroplastach i w jądrze komórkowym w różnych izoformach: od A do E, których synteza kontrolowana jest poprzez geny nazywane: *phyA*, *phyB*, *phyC*, *phyD* oraz *phyE*. W zależności od genu kodującego fitochromy różnią się wrażliwością na fotodegradację. I tak, PHYA należy do fitochromów labilnych, podczas gdy PHYB, PHYC, PHYD i PHYE tworzą populację fitochromów stabilnych. Absorbencja światła czerwonego i dalekiej czerwieni przez fitochrom inicjuje reakcje odpowiadające za procesy kiełkowania, wzrostu i rozwoju, kwitnienia, reprodukcji, rytmów okołodobowych, syntezy Chl i antocyjanów oraz w reakcjach aklimacyjnych [Kozłowska, 2007; Franklin i Quail, 2010; Igamberdiev i in., 2014].

W naturalnych warunkach, przy zmiennym oświetleniu, fototransformacja (przekształcenie) fitochromu z formy P_R w P_{FR} stanowi jedną z wielu skomplikowanych przemian w odpowiedzi morfogenetycznej roślin, zależną od ilości pochłoniętego światła. Procesy te obejmują reakcje: niskoenergetyczne (LFR, z ang. *Very Low Fluence Response*) – zachodzące bardzo szybko, w których czas od pochłonięcia światła przez fitochrom do odpowiedzi jest krótszy niż 5 minut oraz wysokoenergetyczne (HIR, z ang. *High Irradiance Response*) – zachodzące w znacznie wolniejszym tempie, trwające kilka godzin, dni, a nawet tygodni [Kopcewicz i in., 1992; Tretyn, 1998; Hetmann i Kowalczyk, 2011].

1.3.1.2. Receptory światła niebieskiego

Z krótkofalowej części widma światła istotny wpływ na wzrost i rozwój roślin wywiera promieniowanie ultrafioletowe (200 – 400 nm), zielone (505 – 550 nm) oraz niebieskie (400 – 500 nm) pochłaniane (regulowane) przez fotoreceptor zwany kryptochromem. Najlepiej poznane są te absorbujące promienie słoneczne o długości fali: 370, 420, 450 oraz 480 nm.

Kryptochrom jest rozpuszczalnym białkiem jądrowym zbudowanym z dwóch grup chromoforowych – diazoflawiny, zredukowanej flawiny ($FADH_2$) oraz łańcucha aminokwasów zbliżonego budową do tropomiozyny. Kontroluje on funkcjonowanie zegara biologicznego, syntezę antocyjanów oraz procesy wzrostu wydłużeniowego.

Innym receptorem światła niebieskiego są fototropiny o charakterze flawoprotein. Odpowiadają one za fototropizm, hamowanie wzrostu, otwieranie aparatów szparkowych czy ruchy chloroplastów [Kay i in., 2003]. Składają się z N-końcowej części sensorycznej

oraz C-końcowej domeny efektorowej – kinazy serynowo-treoninowej. Barwnikiem światła niebieskiego jest zeaksantyna występująca w błonie tylakoidów chloroplastów oraz powstająca w cyklu ksantofilowym, w wyniku przemiany wiolaksantyny. Pod względem biochemicznym i molekularnym do flawoprotein należą białka ZTL/FKF/LKP. Najlepiej poznane są białka ZTL (z ang. *Zeitlupe*), które uczestniczą w przekazywaniu sygnału świetlnego od fitochromu i kryptochromu poprzez współdziałanie z cząsteczkami PHYB i CRY1 [Zienkiewicz i in., 2004]. Biorą one udział w nastawianiu zegara biologicznego uczestnicząc w regulowanym przez światło degradowaniu białkowych elementów oscylatora komórkowego [Demarsy i Fankhauser, 2009].

W przeciwieństwie do fitochromu, mechanizm działania receptorów światła ultrafioletowego i niebieskiego jest gorzej poznany. Przypuszcza się, że receptory te występują w dwóch formach molekularnych, w których jedna jest aktywna fotomorfogenetycznie, a druga jest pozbawiona tych właściwości. Zakłada się, że przekształcenie formy pierwszej w drugą odbywa się na świetle, a drugiej w pierwszą w ciemności, w wyniku reakcji termicznej [Kopcewicz i in., 1992; Tretyn, 1998; Kozłowska, 2007].

1.4. Ogólna charakterystyka obiektu badawczego

Mchy (*Bryophyta* Schimp.) zaliczane są do najbardziej pierwotnych, zarodnikowych roślin lądowych. Obejmują kilkanaście tysięcy gatunków, występujących na całej kuli ziemskiej. Szczególną ich cechą jest szeroka, ekologiczna amplituda występowania. Spotkamy je w środowiskach wodnych i lądowych, na różnych szerokościach geograficznych od biegunów do równika. Ze względu na małe wymagania siedliskowe, często rosną w miejscach, których nie zasiedlają rośliny naczyniowe.

Mchy występują najczęściej w kępach lub w darniach, na drzewach żywych (epifity) i martwych (epiksylity), w szczelinach skalnych (epility), bezpośrednio na ziemi (epigeity). Mogą rosnąć w różnorodnych siedliskach np. na ugorach, pogorzelskach, murawach, wydmach, torfowiskach, w miejscach osłoniętych przez inne rośliny, w łąkach albo na otwartej przestrzeni, zarówno na obszarach wilgotnych jak i w miejscach bardzo suchych. Jedne występują w miejscach o dużym nasłonecznieniu, a inne rosną w głębokim cieniu, w najniższych piętrach lasu [Polakowski, 1994].

1.4.1. Budowa morfologiczna i cykl życiowy mchów

Mchy są roślinami, które charakteryzuje swoista przemiana pokoleń. W ich cyklu rozwojowym występują dwa pokolenia różniące się morfologicznie i funkcjonalnie. Pierwsze (dominujące) pokolenie płciowe, stanowi haploidalny gametofit, na którym rozwijają się gametangia (rodnia – *archegonium* oraz plemnia – *antheridium*). Drugie – bezpłciowe pokolenie, stanowi diploidalny sporofit, który wytwarza mejospory – zarodniki haploidalne. Gametofit powstaje z haploidalnego zarodnika, który rozwija się początkowo w postać młodocianą zwaną splątkiem (*protonema*), a po pewnym czasie wyrasta ze splątka właściwy gametofit. Splątek u mchów właściwych *Bryidae* (Prątniki) składa się z części asymilującej tzw. *chloronemy* i części wrastającej w podłoże tzw. *ryzonemy*, występującej w postaci rozgałęzionych nitek. U *Sphagnidae* (Torfowce) jest bulwkowaty, a u *Andreaeidae* (Należliny) początkowo bulwkowaty, a następnie przyjmuje kształt rozgałęzionych wstęg.

Właściwy gametofit stanowi ortotropowa lub plagiotropowa ulistniona łądyżka (*axis*) przytwierdzona do podłoża chwytnikami (*rhyzoidy*). Dojrzały płciowo gametofit na szczycie łądyżki posiada w skupieniach butelkowate rodnie i kuliste lub buławkowate plemnice występujące na jednej lub z osobna na dwóch roślinach. W obecności wody, na drodze oogamii dochodzi do zapłodnienia komórki jajowej przez plemnik. Z powstałej zygoty rozwija się sporofit zbudowany ze stopy, która wrasta w gametofit i tkwi w nim przez całe życie, odżywiając się jego kosztem. Oprócz stopy, w skład sporofitu wchodzi dłuższy lub krótszy trzonek zwany szczecinką lub setą połączoną z puszką zarodnikową za pomocą szyjki (*apofizy*) [Szafran, 1963; Polakowski, 1994]. Pokoleniem dominującym w cyklu rozwojowym mchów jest gametofit.

1.4.2. Budowa anatomiczna mchów

Chwytniki (*rhyzoidy*) przytwierdzają roślinę do podłoża i służą do pobierania wody oraz substancji odżywczych. W odróżnieniu od korzenia roślin naczyniowych, ryzoidy nie posiadają tkanek przewodzących. Zbudowane są one z pojedynczych lub złożonych warstw cienkich komórek, z charakterystycznymi skośnymi ścianami poprzecznymi. Wyrastają pojedynczo albo w pękach tworząc silne rozgałęzienia o gładkiej lub brodawkowatej strukturze [Szafran, 1963; Mickiewicz i Sobótka, 1973; Podbielkowski i in., 1982; Szweykowska i Szweykowski, 2003].

Łodyga mchów zbudowana jest z tkanki okrywającej (*epiderma*), wzmacniającej (*skleroderma*), miękiszowej i przewodzącej. Zewnętrzną jej warstwę stanowi epiderma zbudowana z grubościennych, bezbarwnych, prostokątnych lub sześciobocznych komórek. Pod skórą występują warstwy komórek tworzące sklerodermę zbudowaną z martwych komórek o grubych błonach – stereidów i z komórek o cienkich błonach – substereidów. Wnętrze stanowi tkanka zasadnicza (miękiś) zbudowana z dużych i bezbarwnych komórek parenchymatycznych oraz wiązka przewodząca. Wiązka środkowa zbudowana jest w centralnej części z pierwotnych, martwych elementów przewodzących wodę tzw. *hydroidów*, otoczonych żywymi komórkami tzw. *leptoidami* przewodzącymi substancje asymilacyjne. Hydroidy zbudowane są z komórek o dużym ścianie, grubych błonach zewnętrznych i cienkich przegrodach poprzecznych, ustawionych skośnie w stosunku do ścian bocznych. Leptoidy tworzą komórki o małym ścianie i bardzo cienkich błonach, z dziurkowanymi przegrodami poprzecznymi, skośnie ułożonymi względem ścian bocznych [Szafran, 1963; Mickiewicz i Sobótka, 1973; Podbielkowski i in., 1982; Pressel i in., 2006].

Błaszka liściowa mchów jest zbudowana z jednej lub dwóch warstw komórek, za wyjątkiem części środkowej, w której występuje żebro zbudowane z kilku warstw. Komórki te są parenchymatyczne, zarówno krótkie jak i wydłużone, o różnych kształtach, zastrzone na końcach czyli prozenchymatyczne, o błonach gładkich lub brodawkowatych. Żebro budują duże komórki przewodzące (*eurycysty*) występujące w środku lub na brzegu brzuszny oraz małe i cienkościenne komórki towarzyszące tzw. *stenocysty*, komórki *stereidalne* oraz komórki brzuszne lub grzbietowe. U mchów plagiotropowych pomiędzy liśćmi występują nibylistki (*parafilia*) podobne do drobnych liści, które służą do pochłaniania i zatrzymywania wody oraz do asymilacji [Szafran, 1963].

1.4.3. Morfologia a fizjologia mchów

Brak aparatów szparkowych u mchów powoduje, że nie mają one bezpośredniej kontroli nad procesem parowania wody oraz wnikania do wnętrza komórek zawartych w powietrzu substancji lotnych. Jednakże, u niektórych mchów (np. u *Sphagnum*) liście zawierają wyspecjalizowane bezbarwne komórki, które służą do przechowywania wody, a tym samym do utrzymywania odpowiednich warunków uwodnienia. Woda jest

dostarczana z gleby poprzez kapilarny układ komórek biegnący wzdłuż zewnętrznej części łądzki. Są to jednak cechy morfologiczne charakterystyczne dla poszczególnych gatunków [Thompson i Waddington, 2008; McCarter i Price, 2014]. Potwierdza to także Rice i in. [2005], którzy piszą że wśród mchów występują znaczne różnice gatunkowe w wielkości i gęstości komórek oraz wysokości roślin, które to odgrywają kluczową rolę w regulacji metabolizmu. Z kolei Hájek i Vicherová [2014] stwierdzili, że u *Sphagnum* stabilność przemian metabolicznych zależy w większym stopniu od wykształconej tolerancji na zmienne warunki środowiska niż od samej budowy morfologicznej. Według Hebera i in. [2006], mchy są organizmami które wymagają ochrony przed nadmiernym promieniowaniem, zarówno w stanie pełnego uwodnienia jak i w stanie relatywnie niewielkiego uwodnienia, w którym to stanie prowadzą nadal procesy metaboliczne.

1.5. Systematyka badanych gatunków mchów

W niniejszym opracowaniu, systematykę gatunków wybranych do badań fizjologicznych oraz ich nazewnictwo przyjęto według Ochyry i in. [2003].

Gromada: *Bryophyta* Schimp. – Mchy

Klasa: *Bryopsida* (Limpr.) Rothm. – Prątniki

Podklasa: *Bryidae* Engl.

Rząd: *Bryales* M. Fleisch.

Rodzina: *Plagiomniaceae* T.J.Kop. – Płaskomerzykowate

Sekcja: *Plagiomnium*

Gatunek: *Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) T.J.Kop. – Płaskomerzyk kończysty

Klasa: *Polytrichopsida* Vitt, Goffinet & Hedd. Ex Ochyra, Żarnowiec & Bednarek-Ochyra – Płonniki

Podklasa: *Polytrichidae* (W. Frey) Ochyra

Rząd: *Polytrichales* M. Fleisch. – Płonnikowce

Rodzina: *Polytrichaceae* Schwägr. – Płonnikowate

Sekcja: *Sexangularia* (Bruch & Schimp.) G.L.Sm

Gatunek: *Polytrichastrum formosum* (Hedw.) G.L.Sm. – Złotowłos strojny

Klasa: *Bryopsida* (Limpr.) Rothm. – Prątniki

Podklasa: *Hypnidae* W.R.Buck, Goffinet & A.J. Shaw

Rząd: *Hypnales* (M. Fleisch) – Rokietowce

Rodzina: *Pleurozioideae* Ando, Seki, N. Nishim. & Higuchi

Sekcja: *Pleurozium* Mitt. – Rokietnik

Gatunek: *Pleurozium schreberi* (Willd. Ex Brid.) Mitt. – rokietańnik pospolity

1.6. Charakterystyka szczegółowa badanych gatunków

1.6.1. Płaskomerzyk (= płożimerzyk) kończysty (*Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) T.J.Kop.)

Synonimy nazwy łacińskiej: *Mnium cuspidatum* Hedw.

Gatunek mchu z rodziny merzykowate (*Mniaceae* Schwägr. in Willd.). Tworzy luźne darnie w kolorze żółtawo-zielonym. Łodyżki gametofitu rosną pionowo, w stanie płonnym łukowato zakrzywione, ulistnione w dwóch rzędach (Ryc. 3A i 3B). Liście jajowate, ostro zakończone, długości 4 (rzadko 6) mm i szerokości 2 mm. Nerw kończy się tuż przed końcem blaszki. Komórki centrum liścia zaokrąglone-sześciokątne. Gatunek jednopienny – na jednym gametoficie występują rodnie i plemniki. Sporogon od 1,5 do 2,5 cm długości. Puszka zarodnionośna zakrzywiona w całości w dół, 2,5 mm długości, z tępo zakończoną pokrywą. Zarodniki dojrzewają wiosną [Szafran, 1948; Bednarz i Koczwańska, 1976].

Rośnie głównie w wilgotnych lasach, na skałach wapiennych, u podstaw pni drzew, na próchnie. Spotykany jest też w parkach i na łąkach. Występuje pospolicie w Europie Centralnej, na całym świecie: w Azji, Ameryce Północnej i Środkowej, a także w północnej i zachodniej Afryce [www.bbsfieldguide.org.uk].

A



B



Ryc. 3. Pokrój gametofitu i sporofitu *Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) T.J.Kop.; A – gametofit, B – gametofit – morfologia i anatomia liścia oraz sporofit [źródło: www.bildatlas-moose.de/].

1.6.2. Złotowłos strojny (*Polytrichastrum formosum* (Hedw.) G.L.Sm.)

A**B**

Ryc. 4. Pokrój gametofitu i sporofitu *Polytrichastrum formosum* (Hedw.) G.L.Sm.; A – gametofit, B – liście gametofitu z lamellami oraz puszka sporofitu [źródło: www.bildatlas-moose.de/].

Synonimy nazwy łacińskiej: *Polytrichum formosum* Hedw., *P. attenuatum* Menzies ex Brid.

Mech z rodziny płonnikowatych (*Polytrichaceae* Schwägr. in Willd.). Tworzy rozległe, luźne darnie niebieskozielonej barwy. Gametofit dwupienny. Łodyżka gametofitu osiąga u osobników męskich 9 – 12 mm, u żeńskich 4 – 8 cm, wzniesiona ze spiralnie ułożonymi liśćmi, przypominających gwiazdki (Ryc. 4A i 4B). Starsze okazy mają często duże, żółtawe liście ochronne. Puszki sporofitu wzniesione, pokryte jasnym, włóknistym czepkiem. Zarodniki brązowe, dojrzewają od III do VI [Bednarz i Koczwańska, 1976].

Mech bardzo częsty w lasach liściastych i iglastych, spotykany na omszałych skałach i próchniejącym drewnie. Jest wskaźnikiem cienistych, suchych do umiarkowanie wilgotnych lasów. Występuje na słabo kwaśnym podłożu [www.bbsfieldguide.org.uk].

1.6.3. Rokietnik pospolity (*Pleurozium schreberi* (Willd. ex Brid.) Mitt.)

Synonimy nazwy łacińskiej: *Entodon schreberi* (Willd. ex Brid.) Mönk., *Hypnum schreberi* Willd. ex Brid., *Hylocomium parietinum* Lindb., *Calliergonella schreberi* (Willd. ex Brid.) Grout, *Hypnopsis schreberi* (Willd. ex Brid.) Podp.

Gatunek mchu należący do rodziny gajnikowatych (*Hylocomiaceae* (Broth.) M.Fleisch.). Tworzy darnie luźne, zielone, żółtozielone i bladozielone, w stanie suchym błyszczące. Łodyga do 15 cm wysokości, koloru czerwonego. Gałązki proste, wyrastające przeważnie w jednej płaszczyźnie (Ryc. 5A i 5B). Liście łodygowe ustawione gęsto, o długości 2,5 mm i szerokości 1,4 mm, jajowate, łyżkowato wklęsłe, zakończone krótkim, rurkowato zwiniętym kończykiem. W górnej części liścia brzeg może być słabo ząbkowany (wystające szczyty komórek). Komórki liścia wydłużone, silnie porwane. Żebro krótkie, podwójne, koloru żółtego lub brak żebra. Liście gałązkowe podobne do łodygowych, ale mniejsze – do 1,5 mm długości. W Polsce seta z puszką wykształca się rzadko. Seta o długości 2,5 cm, purpurowa, gładka. Puszka wydłużono-jajowata, o długości 2,5 mm, zgięta, koloru brązowego. Wieczko stożkowate, ostro zakończone [Szafran, 1948, 1961; Bednarz i Koczwańska, 1976].

Rokietnik pospolity jest wykorzystywany jako bioindykator zanieczyszczeń. W Polsce gatunek pospolity, objęty częściową ochroną [Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 r.].

A



B



Ryc. 5. Pokrój gametofitu i sporofitu *Pleurozium schreberi* (Willd. ex Brid.) Mitt.; A – gametofit, B – morfologia liści gametofitu [źródło: www.bildatlas-moose.de/].

1.7. Metody analizy instrumentalnej wykorzystane w odpowiedzi mchów na działanie ozonu w zróżnicowanym składzie spektralnym światła

1.7.1. Metody oceny stanu fizjologicznego roślin na podstawie parametrów kinetyki fluorescencji Chl *a*

1.7.1.1. Fluorescencja Chl *a*

Fotosynteza jest najważniejszym procesem bioenergetycznym, w którym organizmy autotroficzne (rośliny, glony, sinice i niektóre organizmy bakteryjne) przekształcają energię promieniowania słonecznego w energię chemiczną zawartą w związkach organicznych. Proces ten zachodzi głównie w zielonych tkankach, a dokładnie w chloroplastach, których wnętrze zajmuje stroma wypełniona tylakoidami tworzonymi przez wewnętrzną błonę chloroplastu. W błonach transformujących energię świetlną obecne są kompleksy białkowo-barwnikowe, które różnią się budową, zawartością barwników asymilacyjnych, białek, lipidów oraz właściwościami spektralnymi. Głównym ich zadaniem jest absorpcja energii świetlnej (szczególnie światła niebieskiego i czerwonego) przez cząsteczki barwników asymilacyjnych, która wykorzystywana jest do uruchamiania reakcji fotochemicznych [Strasser i in., 2000; Roháček, 2002]. W procesie fotosyntezy, fluorescencja Chl stanowi nie więcej niż 3 – 5 % całkowitej ilości pochłoniętego światła. Jest ona miernikiem zaabsorbowanej energii światła, która nie została wykorzystana w procesie fotosyntezy ani wyemitowana w postaci ciepła [Maxwell i Johnson, 2000; Kalaji i in., 2004; Garstka, 2007]. W nieuszkodzonych liściach roślin i komórkach glonów, fluorescencja Chl związana jest z cząsteczką chlorofilu *a* (Chl *a*), ponieważ stan wzbudzony chlorofilu *b* (Chl *b*) jest z wysoką wydajnością przekazywany na Chl *a* [Kalaji i Łoboda, 2010].

Zaabsorbowana energia PAR = fotochemia + ciepło + **fluorescencja**

Energia słoneczna docierająca do liści w postaci strumienia fotonów jest pochłaniana przez cząsteczki Chl w kompleksach zbierających światło. Z tych kompleksów, zwanych antenami energetycznymi, energia jest przekazywana do centrów reakcji fotosystemów: drugiego (PSII) i pierwszego (PSI) w celu uruchomienia przemian fotochemicznych. Transportowana energia, zanim osiągnie centrum reakcji, tracona jest częściowo w postaci ciepła (NPQ) lub fluorescencji Chl. Fluorescencja Chl powstaje

podczas powrotu elektronów cząsteczek barwnika wzbudzonych przez fotony światła do niższego poziomu energetycznego, w którym energia tracona jest w postaci promieniowania świetlnego [Rosenqvist i van Kooten, 2003]. Wydajność fluorescencji Chl jest określana jako stosunek wyemitowanych w czasie fluorescencji fotonów do całkowitej liczby zaabsorbowanych fotonów PAR [Kalaji i Łoboda, 2010; Sulkiewicz i Ciereszko, 2016].

1.7.1.1.1. Fluorymetry

Typowe fluorymetry określane jako systemy ciągłego wzbudzenia umożliwiają bezpośredni pomiar aktywności fotochemicznej PSII, po uprzedniej aklimacji rośliny do ciemności. Pozwalają one na określenie podstawowych parametrów fluorescencji Chl: fluorescencji zerowej (F_0), fluorescencji maksymalnej (F_m), fluorescencji zmiennej (F_v) oraz maksymalnej wydajności fotochemicznej PSII (F_v/F_m) [Kalaji i Łoboda, 2010].

Fluorymetry typu FluorCam (Photon System Instruments, Czechy) jako urządzenia modulowo-pulsowe pozwalają na zobrazowanie fluorescencji Chl *a* w systemie PAM [www.psi.cz/]. Tego typu fluorymetry umożliwiają wykonanie pomiarów na świetle bez adaptacji do ciemności. Jest to możliwe dzięki LEDowym diodom, które oddzielają sygnał modulowany (sygnał fluorescencji Chl *a*) od sygnału niemodulowanego (sygnał światła dziennego) [Kalaji i Łoboda, 2010]. Kamera CCD (z ang. *Charge Coupled Device*) pełni funkcję detektora, a światło aktywne równomiernie oświetla badany obiekt. Dodatkowym atutem FluorCamu jest jednoczesna identyfikacja kilku próbek i wyliczenie parametrów fluorescencji dla każdej z nich z osobna. W oparciu o tzw. „efekt Kautskyego” [Kautsky i Hirsch, 1931], urządzenie to, oprócz wyznaczenia podstawowych parametrów fluorescencji Chl *a*, umożliwia pomiar specyficznych parametrów fluorescencji m.in. wygaszania fotochemicznego (Q_p), wygaszania niefotochemicznego (NPQ) oraz wskaźnika witalności PSII (Rfd) [Lichtenthaler i in., 2005].

1.7.1.1.2. Parametry kinetyki fluorescencji Chl *a* wykorzystywane do oceny sprawności fotochemicznej PSII

Fluorescencja zerowa obiektów zaadaptowanych do ciemności – F_0

Fluorescencja zerowa liścia stanowi pierwszy punkt na krzywej indukcji fluorescencji Chl. Wskazuje ona na straty energii wzbudzenia przekazywanej z anten energetycznych do centrum reakcji PSII. Charakteryzuje też emisję wzbudzonych cząsteczek Chl w PSII,

w czasie kiedy wszystkie akceptory są utlenione, a centra PSII otwarte i gotowe do przyjęcia elektronów [Baker i Rosenquist, 2004]. Spełnienie tych warunków wymaga wcześniejszej adaptacji tkanki do ciemności [Hansatech, 2008]. Straty radiacyjne w antenie są uzależnione nie tylko od natężenia wzbudzającego PAR, ale także od efektywności przekazywania energii wzbudzenia z LHCII do centrum aktywnego PSII. Fluorescencja zerowa jest mierzona przy niskim natężeniu PAR około $0,01 \mu\text{mol (fotonów)} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ [Lichtenthaler i in., 2004a].

Fluorescencja maksymalna wyznaczona po adaptacji ciemniowej – F_m

Fluorescencja maksymalna informuje o ilości zredukowanych akceptorów elektronów w PSII. Przedstawia maksymalne natężenie fluorescencji w warunkach, kiedy wszystkie cząsteczki plastochinonu w PSII są zredukowane i nie przyjmują elektronów, a centra PSII są chwilo zamknięte. Wartości F_m są zależne od zawartości Chl w badanej tkance. Po osiągnięciu maksymalnego natężenia fluorescencji F_m wydajność fluorescencji Chl obniża się szybko do poziomu fluorescencji stacjonarnej (F_t) zbliżonego do poziomu F_0 [Kalaji i Łoboda, 2010].

Fluorescencja stacjonarna – F_t

Parametr fluorescencji stacjonarnej przedstawia natężenie fluorescencji Chl w przebiegu fotosyntezy, w warunkach stacjonarnych. Wartość F_t zależy od przebiegu całego procesu fotosyntezy w badanych roślinach oraz od czynników środowiska, w których dana roślina występuje [Fracheboud, 2000].

Maksymalna fotochemiczna wydajność PSII – F_v/F_m

Maksymalna wydajność fotochemiczna PSII – F_v/F_m jest wskaźnikiem witalności aparatu fotosyntetycznego. Dla roślin zaadoptowanych do ciemności określa potencjalną wydajność z jaką PSII absorbuje energię świetlną [Guidi i in., 2007]. Dla większości roślin w fazie pełnego rozwoju i warunkach bezstresowych maksymalna wartość tego parametru wynosi 0,83 [Björkman i Demmig, 1987]. Jego obniżenie wskazuje na działanie czynników stresowych zmniejszających wydajność fotochemiczną PSII przez silną ingerencję w transport elektronów w łańcuchu fotosyntetycznym [Tuba i in., 2010] albo na aktywną ochronę przeciwsłoneczną [Horton i in., 1996].

Wskaźnik witalności PSII – Rfd

Wyższe wartości fotosyntezy netto znajdują odzwierciedlenie w wysokich wartościach wskaźnika Rfd. Zarówno u roślin rosnących w pełnym słońcu jak i w miejscach zacienionych, wartości Rfd wykazują heterogeniczność związaną najprawdopodobniej z nierównomiernym rozłożeniem aparatów szparkowych oraz niejednorodnym transportem wody. Dla liści w pełnym świetle wskaźnik witalności PSII przyjmuje wartości powyżej 2,7 i wskazuje na wysoką aktywność PSII, a dla roślin rosnących w cieniu osiąga wartości od 1 do 2,7. Wartości poniżej 1 świadczą o zaburzeniu reakcji fotochemicznych w tylakoidach chloroplastów [Lichtenthaler i in., 2000].

Wskaźnik wygaszania niefotochemicznego – NPQ

Zamiana nadmiaru energii świetlnej na ciepło stanowi u roślin zasadniczą ochronę przed nadmiernym promieniowaniem słonecznym [Horton i in., 1996; Feild i in., 1998; Szabó i in., 2005; Heber i in., 2006]. Proces ten określany jest jako wygaszanie niefotochemiczne, a jego wydajność mierzona jest wartością wskaźnika NPQ. Wskaźnik NPQ przyjmuje wartości od 0 do nieskończoności w zależności od gatunku i działających czynników środowiska [Maxwell i Johnson 2000; Bates i in., 2009].

Wygaszanie fotochemiczne – Qp

Wygaszanie fotochemiczne (Qp) informuje o ilości otwartych centrów reakcji PSII, czyli o stosunku ilości energii zaabsorbowanej przez PSII do ilości energii zużytej w procesie fotosyntezy [Maxwell i Johnson, 2000]. Spadek Qp w wysokim natężeniu światła jest spowodowany fotoinhibicją fotosyntezy, ale także silnym wzrostem komponentów wygaszania wysokiej energii [Lichtenthaler i Burkart, 1996].

Wydajność reakcji fotochemicznej w PSII – QY

Parametr ten służy do oceny wydajności kwantowej reakcji fotochemicznej w PSII. Określa on ilość kwantów wykorzystanych w przemianach fotochemicznych do całkowitej liczby zaabsorbowanych kwantów PAR [Genty i in., 1989].

1.7.1.1.3. Zastosowanie parametrów kinetyki fluorescencji Chl *a* w fizjologii roślin

Badania *in vivo* fluorescencji Chl *a* są rozpowszechnioną metodą do rejestrowania zmian zachodzących w aparacie fotosyntetycznym oraz określenia stanu fizjologicznego roślin

zielonych [Bussotti i in., 2005; Oguntimehin i Sakugawa, 2009; Desotgiu i in., 2012; Kalaji i in., 2012], glonów [Sikora i in., 2009], porostów [Scheidegger i Schroeter, 1995], a nawet cyjanobakterii [Jodłowska i Śliwińska, 2014] w warunkach stresowych. Monitorowanie fluorescencji jest nieinwazyjną, bardzo czułą metodą wykorzystywaną do badania wydajności fotosyntezy PSII. Jest także metodą szeroko stosowaną w fizjologii roślin do określania reakcji roślin na stres fizyczny, chemiczny lub chemiczno-fizyczny w środowisku [Lichtenthaler i in., 1998; Maxwell i Johnson, 2000; Tremblay i in., 2012].

Fluorescencja Chl umożliwia badanie pojedynczych roślin jak i złożonych systemów roślinnych [Srivasta i Strasser, 1997]. Metoda ta wykorzystywana jest w badaniu wpływu abiotycznych i biotycznych czynników środowiska [Dai i in., 2009], zanieczyszczeń środowiska (m.in. metali ciężkich, herbicydów) [Tuba i in., 2010], przekształceń zachodzących pod wpływem globalnych zmian klimatu (wzrost stężenia CO₂, ozonu, lotnych związków organicznych oraz wzrost temperatury i natężenia promieniowania UV) na szatę roślinną [Srivastava i Strasser, 1996, 1997]. Zaletą stosowania metod fluorescencyjnych jest m.in. jej nieinwazyjność, szybkość wykonywania pomiaru i niski koszt oraz możliwość przeprowadzania badań zarówno w warunkach laboratoryjnych, szklarniowych jak i polowych. Metody fluorescencyjne znalazły szerokie zastosowanie w rolnictwie [Massacci i in., 2008], leśnictwie [Mohammed i in., 1995], hodowli roślin uprawnych i ozdobnych [Kuckenberga i in., 2009] oraz innych dziedzinach nauki.

1.7.1.2. Spektrofluorymetria

Niezwykle użyteczną metodą do opisu fluorescencji Chl, fenoli i innych związków chemicznych występujących w roślinach jest spektrofluorymetria. Umożliwia ona przede wszystkim detekcję widma fluorescencji Chl w zakresie spektrum czerwonego i dalekiej czerwieni z maksimum przy 690 i 735 nm (odpowiednio F690 i F735) oraz fluorescencji związków fenolowych w spektrum niebiesko-zielonym z maksimum przy 450 i 530 nm (odpowiednio F450 i F530) [Lichtenthaler i Schweiger, 1998; Lichtenthaler i in., 2004b]. W świetle czerwonym oraz dalekiej czerwieni fluorescencja może być wzbudzana przez promieniowanie UV (340 lub 355 nm), niebieskie (430 lub 450 nm), zielone (533 lub 550 nm), a także pomarańczowo-czerwone (633 nm) [Lichtenthaler i in., 2004b]. Widma emisji fluorescencji dostarczają istotnych informacji

o zmieniającej się zawartości niektórych związków chemicznych w warunkach stresowych [Kula i in., 2016]. Liczne badania wykazują, że szczególnie użyteczne w interpretacji zmian zachodzących w roślinach wydają się być informacje pozyskane dzięki różnego rodzaju współczynnikom. Współczynnik fluorescencji F450/F690 (niebieski / bliska czerwień) jest wczesnym, a F450/F735 (niebieski / daleka czerwień) najbardziej wrażliwym wskaźnikiem zmian aktywności metabolicznej [Schweiger i in., 1996; Buschmann i Lichtenthaler, 1998]. Współczynnik intensywności fluorescencji F690/F735 (bliska czerwień / daleka czerwień) jest wskaźnikiem zawartości Chl [D'Ambrosio i in., 1992; Tuba i in., 1993]. Stosunki fluorescencji F440/F690, F440/F735, F530/F690, F530/735, F595/F530 informują o reakcjach roślin na działające na nie i zmieniające się czynniki abiotyczne oraz biotyczne środowiska [Lichtenthaler i Rinderle, 1988; Hideg i in., 2002]. Zaproponowane przez Jena i in. [2012] pomiary intensywności fluorescencji PSII i PSI w części antenowej (A) i korowej (C) użyto do obliczenia współczynników antena/kora (A/C). I tak, pik 685 nm wskazuje na PSII-A, 695 nm odpowiada PSII-C, 725 nm – PSI-A i 735 nm – PSI-C. Z kolei wartość PSI/PSII wyraża stosunek intensywności fluorescencji anten.

1.7.1.3. Oznaczanie zawartości Flv i Chl oraz wskaźnika indeksu azotowego (NBI) jako wskaźników witalności roślin

O ile produkty metabolizmu pierwotnego są wspólne dla wszystkich roślin, o tyle metabolity wtórne są istotnie różne. Do grupy metabolitów wtórnych należy około 6000 różnych flawonoidów (Flv). Wśród nich można wyróżnić m.in. flawonole, flawony, flawany, izoflawany, izoflawony, dihydroflawonole, flawanony, chalkony, antocyjanidyny. Flv są klasyfikowane na podstawie różnic w ich budowie tj. rodzaju wiązania glikozydowego, liczby przyłączonych cząsteczek cukrów, liczby i lokalizacji grup hydroksylowych i metoksyloowych w pierścieniach oraz obecności grup sulfonowych na cukrach lub aglikonach [Havsteen, 1983]. W komórkach roślinnych Flv chronią przed atakiem roślinożerców i chorobotwórczymi mikroorganizmami. Służą jako atraktanty wpływające na zapylenie kwiatów i rozprzestrzenianie nasion, warunkują kolor i zapach kwiatów, liści i owoców, regulują wzrost i rozwój, warunkują oddziaływania symbiotyczne roślin z innymi organizmami [Harborne, 2000]. Flawonole i antocyjany chronią przed uszkodzeniami DNA i aparat fotosyntetyczny poprzez silną absorpcję promieniowania UV [Tevini, 1993]. Badania ostatnich lat wskazują,

że polifenole, a w szczególności Flv, mogą być wskaźnikami dostępności azotu przekładającego się na wzrost i rozwój roślin.

Przejawem dobrej kondycji roślin jest m.in. intensywna biosynteza Chl. W korzystnych warunkach wzrostu roślina ogranicza syntezę metabolitów wtórnych ze względu na wysoki wydatek energetyczny związany z tymi procesami. W przypadku niekorzystnych warunków wzrostu np. niedoboru azotu roślina przekierowuje metabolizm na zwiększenie produkcji metabolitów wtórnych, w tym Flv [Gulmon i Mooney, 1986].

Oznaczenie ilości Chl i Flv w liściach umożliwia wyznaczenie tzw. wskaźnika indeksu azotowego (NBI), który informuje o dostępności kluczowych substancji mineralnych, a dokładnie azotu w środowisku. Pomiary te umożliwiają wczesne uzyskanie danych o niedoborach azotu w roślinach.

Omawiane parametry można wyznaczyć przy użyciu szczególnego rodzaju fluorymetru tj. Dualex® Scientific (FORCE-A, Francja) [www.force-a.com]. Urządzenie to pozwala na szybką, bezinwazyjną i jednoczesną ocenę stanu fizjologicznego roślin bez wcześniejszego ich zaciemniania [Cerovic i in., 2012].

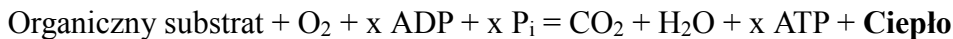
1.7.2. Metoda kalorymetrii izotermicznej

Już na początku XX wieku było wiadomo, że rośliny prowadząc przemiany metaboliczne emitują ciepło. Jednak dopiero od niedawna badania w tym w obszarze nauki rozwijają się bardziej dynamicznie. Jak podają Criddle i in. [1991a], „*produkcja ciepła jest nieuniknionym efektem ubocznym we wszystkich procesach metabolicznych*”. Pomiary ilości emitowanego ciepła mogą zatem prowadzić do pełniejszego zrozumienia niektórych procesów z zakresu fizjologii roślin [Criddle in., 1991b].

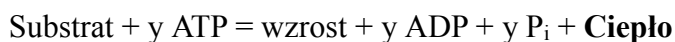
Oddychanie tlenowe obejmuje zarówno reakcje kataboliczne jak i anaboliczne. W reakcjach katabolicznych związki organiczne są utleniane do CO₂. Część energii wytwarzanej przez utlenianie jest wykorzystywana do wytwarzania ATP z ADP i Pi. Natomiast pozostała część energii jest tracona w postaci ciepła. ATP wytwarzany w reakcjach katabolicznych wykorzystywany jest następnie w reakcjach anabolicznych, w wyniku których powstają nowe tkanki roślinne. Procesy te przekładają się na wzrost komórek (organizmów). W reakcjach anabolicznych ATP ulega z powrotem hydrolizie

do ADP i P_i. Produkowane jest także ciepło [Thygerson i in., 2002]. Poniższe równania reakcji opisują schematycznie omawiane procesy:

Katabolizm



Anabolizm



Pomiar ilości emitowanego ciepła prowadzi się metodą kalorymetrii izotermicznej. Kalorymetria izotermiczna jest czymś więcej niż tylko kolejnym sposobem pomiaru tempa metabolizmu. Pozwala ona mierzyć zasadniczo inny parametr (energię), podczas gdy pozostałe metody pomiaru opierają się na pomiarze masy [Criddle i Hansen, 1999]. Techniki pomiarów kalorymetrycznych organizmów żywych opisali w szerokim zakresie Wadsö [1995] oraz Criddle i Hansen [1999]. Okazały się one być przydatne w monitorowaniu wielu typów procesów biologicznych [Hansen i in., 1997].

Kalorymetria jako metoda bezinwazyjna i niedestrukcyjna pozwala na badanie chemicznych, fizycznych i biologicznych procesów w komórkach, tkankach, organach, ciałach stałych, gazach czy cieczach. Najnowsze badania kalorymetryczne prowadzone są w zawiesinach komórkowych [Rank i in., 1991; Janeczko i in., 2007a], glonach [Loseva i in., 2004; Alyabyev i in., 2007; Kula i in., 2014], mchach [Możdżeń i Skoczowski, 2015], nasionach [Schabes i Sigstad, 2005], siewkach [Płażek i Rapacz, 2000; Skoczowski i in. 2011b], liścieniach [Janeczko i in., 2007b; Skoczowski i in., 2011a], liściach [Fodor i in., 2007; Baltruschat i in., 2008], korzeniach i bulwach [Wadsö i in., 2004] oraz na owocach [Criddle i in., 1991b]. Kalorymetria wykorzystywana jest także w badaniach nad kiełkowaniem nasion, tempem wzrostu siewek i starszych stadiów rozwojowych roślin [Edelstein i in., 2001; Schabes i Sigstad, 2006], stresu suszy [Możdżeń i Skoczowski, 2015], stresu termicznego [Rank i in., 1991], w oddziaływaniu związków allelopatycznych [Kupidłowska i in., 2006; Synowiec i in., 2015], herbicydów [Stokłosa i in., 2006; Saja, 2013] oraz w odpowiedzi roślin na zakażenia bakteryjne [Janeczko i in., 2007b; Skoczowski i in., 2011a].

1.7.3. Konduktometryczna ocena stanu fizjologicznego roślin

Jedną z wielu reakcji roślin na czynniki stresowe środowiska są uszkodzenia błon komórkowych, którym towarzyszy nadmierny wyciek elektrolitów. Pierwsze pomiary wycieku elektrolitów z roślin przeprowadzono prawie sto lat temu [Osterhaut, 1922; Dexter i in., 1932]. Badania te sugerowały, że wyciek elektrolitów odnosi się do uszkodzenia błon komórkowych powodując śmierć komórki. Z biegiem lat stwierdzono, że zwiększony wypływ elektrolitów, wywołany działaniem czynników stresowych, jest wynikiem zaburzeń we właściwościach fizykochemicznych błon komórkowych. W skrajnych przypadkach stan destabilizacji błon prowadzi do śmierci komórek. W tylakoidach zmiany właściwości błon wywołują inaktywację PSII, zaburzenia w transporcie elektronów oraz oksydacyjną degradację Chl. Zaburzenia w błonach inicjują z kolei procesy peroksydacji lipidów i denaturacji białek. W konsekwencji wzrasta przepuszczalność błon powodując niekontrolowany wyciek elektrolitów, szczególnie jonów potasu [Palta i in., 1977; Starck i in., 1995; Bajji i in., 2002].

Pomiary wypływu elektrolitów są powszechnie stosowane jako jeden z wielu wskaźników stresu w komórkach roślinnych [Blum i Ebercon, 1981; Lee i Zhu, 2010]. Wyciek elektrolitów jest wszechobecny u różnych gatunków i może być wywołany przez wszystkie czynniki stresowe, włączając atak patogenów [Maffei i in., 2007], zasolenie [Demidchik i in., 2010], metale ciężkie [Demidchik i in., 2003], wysoką kwasowość gleby ($\text{pH} < 4$) [Marschner i in., 1966], zranienia [Nassery, 1972], suszę [Blum i Ebercon, 1981; Shcherbakova i Kacperska, 1983] i inne [Demidchik i in., 2014].

2. CEL PRACY

W środowisku leśnym natężenie i skład spektralny światła mają decydujący wpływ na występowanie wielu gatunków roślin. Spotyka się tam zarówno rośliny wymagające pełnego składu spektralnego światła jak i te mogące żyć w cieniu tj. przy niskim stosunku $R : FR$. Dla roślin żyjących w miejscach zacienionych światło ma szczególne znaczenie, ponieważ pobudza je do krótkiej, ale intensywnej asymilacji. Wśród nich wyróżniamy mchy (*Bryophyta*), które są organizmami niewielkich rozmiarów, ale dzięki swojej prostej budowie anatomicznej i morfologicznej mogą egzystować w warunkach, które dla innych organizmów roślinnych są śmiertelne [Krupa, 1984; Krupa i Rzepka, 1995; Rzepka i in., 2001; Proctor, 2003; Rzepka i in., 2005; Rzepka, 2008]. Duża odporność mchów na zmienne warunki środowiska i zdolność do reaktywacji procesów fizjologicznych jest cechą różniącą je od roślin wyższych. Z drugiej strony, stosunkowo niewielka liczba informacji o wpływie czynników abiotycznych na rośliny niższe zachęca do prowadzenia badań na różnych poziomach ich organizacji: poczynając od molekularnej, komórkowej, gametoforowej, a kończąc na funkcjonowaniu ekosystemów, w których mchy występują.

W związku z tym, w niniejszej pracy podjęto próbę poznania mechanizmów regulacji i modyfikacji przebiegu wybranych procesów życiowych trzech pospolitych gatunków mchów: *Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) T.J.Kop., *Polytrichastrum formosum* (Hedw.) G.L.Sm., *Pleurozium schreberi* (Willd. Ex Brid.) Mitt. w odpowiedzi na działanie ozonu w warunkach zróżnicowanego składu spektralnego światła. W tym celu sformułowano następujące pytania szczegółowe:

- (a) Czy skład spektralny światła wpływa na morfologię mchów w warunkach stresu ozonowego?
- (b) Jak zmieniają się wartości świeżej i suchej masy oraz procentowej zawartości wody gametofitów mchów poddanych działaniu ozonu w różnym składzie spektralnym światła?
- (c) Jak skład spektralny światła wpływa na, indukowaną przez ozon, przepuszczalność membran plazmatycznych w gametoforach mchów?
- (d) Czy skład spektralny światła wpływa na zawartość Chl w gametoforach mchów w warunkach stresu ozonowego?

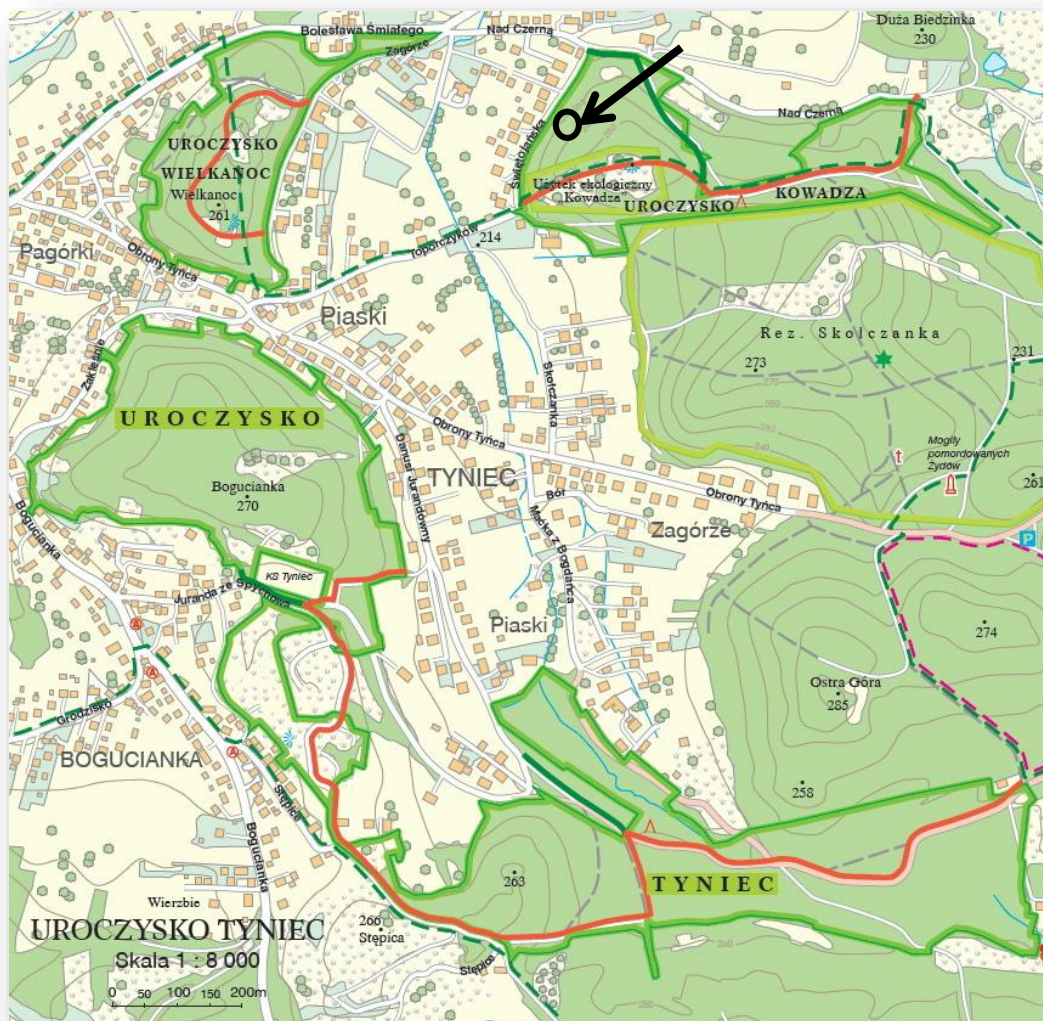
- (e) Czy w zależności od składu spektralnego światła, w warunkach stresu ozonowego, zmienia się zawartość Flv i NBI w gametoforach mchów?
- (f) Czy wpływ ozonu na sprawność fotochemiczną PSII zależy od składu spektralnego światła?
- (g) Czy intensywność przebiegu procesów metabolicznych w gametofitach mchów traktowanych ozonem zależy od składu spektralnego światła?
- (h) Jak skład spektralny światła wpływa na widma emisji fluorescencji liści mchów poddanych fumigacji ozonem?

W pracy podjęto także próbę określenia wpływu stresu ozonowego (działającego w różnym składzie spektralnym światła) na wybrane elementy enzymatycznego układu antyoksydacyjnego. Do badań wybrano gametofory *P. cuspidatum*, w których dokonano analizy aktywności i składu izoform SOD. SOD wybrano ze względu na występowanie tego enzymu w kilku (łatwych do elektroforetycznego rozdzielania) izoformach różniących się m.in. lokalizacją w komórce (mitochondria, chloroplasty, cytoplazma). Umożliwia to zatem śledzenie odpowiedzi różnych organelli komórkowych na stres ozonowy.

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Materiał roślinny

Materiał roślinny stanowiły gametofity trzech gatunków mchów: *Plagiomnium cuspidatum* (merzyk fałdowany), *Polytrichastrum formosum* (złotowłos strojny) oraz *Pleurozium schreberi* (rokietnik pospolity). Rośliny zebrano w okolicach Krakowa (Tyniec – 50.0167 °N 19.8167 °E), w leśnym kompleksie Bielańsko-Tynieckiego Parku Krajobrazowego w Podgórkach Tynieckich (Ryc. 6). Obiekty badawcze dobrano tak, aby różniły się budową morfologiczną.



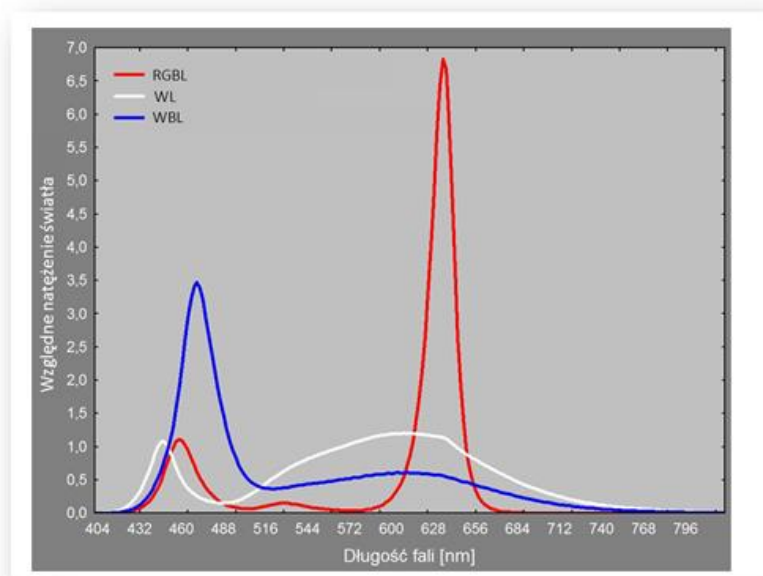
Ryc. 6. Teren zbioru materiału badawczego. Miejsce pobrania zaznaczono strzałką i czarnym kółkiem w górnej części mapy [źródło: Sikora i Podwika, 2011].

3.2. Aklimatyzacja roślin

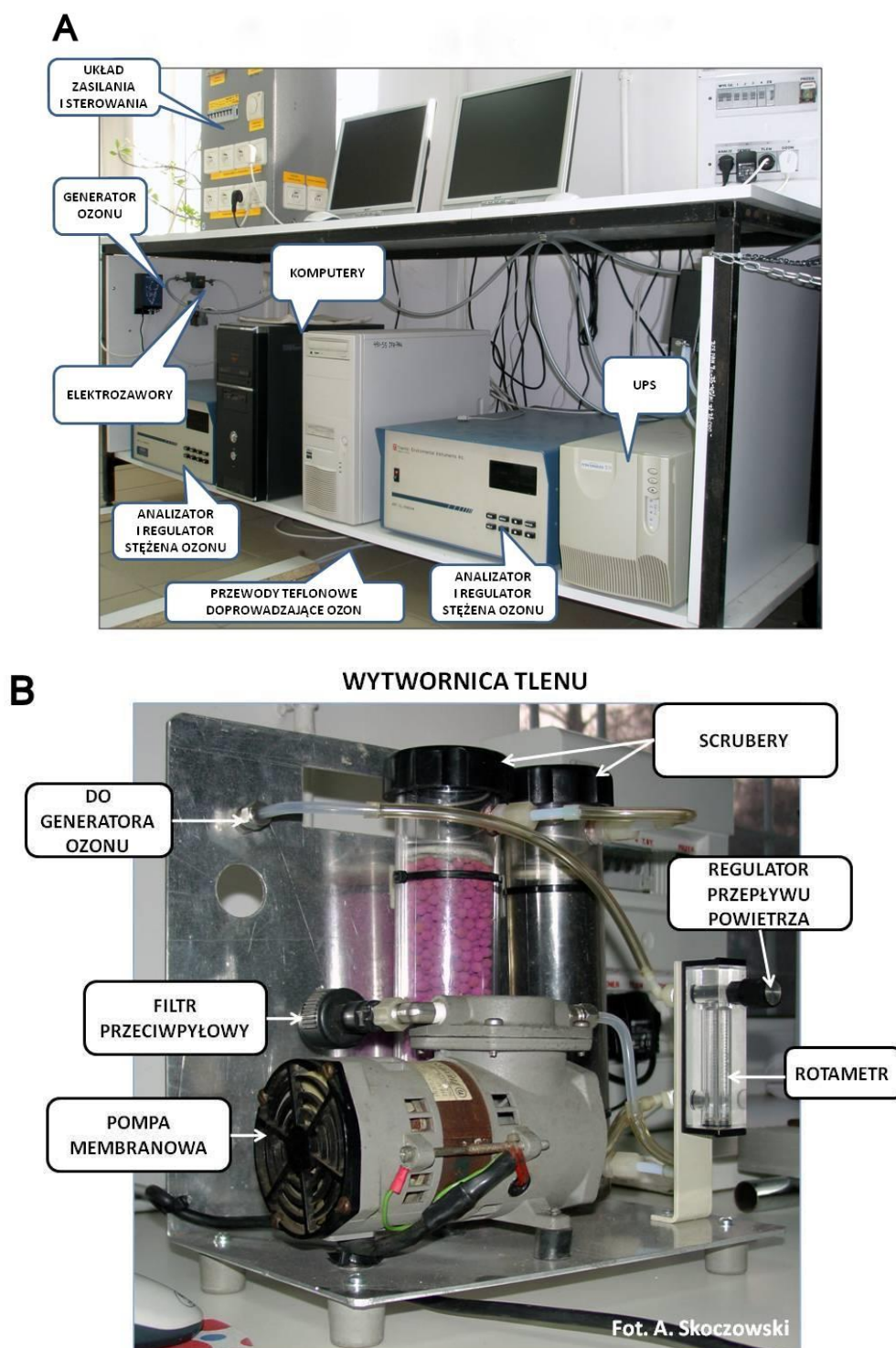
W celu wyeliminowania wpływu zmiany składu spektralnego światła (z naturalnego na sztuczny) na metabolizm roślin, zebrane darnie mchów aklimatyzowano do nowych warunków świetlnych przez 30 dni. W tym celu darnie umieszczono w plastikowych pojemnikach, w komorze fitotronowej zbudowanej na bazie komory chłodniczej typu MR-1400 G (PP-H JUKA, Polska), w warunkach trzech różnych składów spektralnych światła: w świetle białym (WL), czerwonym z domieszką światła zielonego i niebieskiego (RGBL) oraz w niebiesko-białym (WBL). W każdym przypadku natężenie światła wynosiło $200 \mu\text{mol (fotonów)} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ przy wilgotności względnej powietrza (RH) 80 – 90 % i fotoperiodzie 12 / 12 h (dzień / noc) (Ryc. 7A i B).

3.3. Fumigacja ozonem

W każdym ze składów spektralnych światła rośliny fumigowano ozonem w ciągu dnia przez 12 godzin w zamkniętych pojemnikach przez 7 dni (Ryc. 7B). Ozon wytwarzany był z tlenu (produkowanego za pomocą wytwornicy, Ryc. 8B) za pomocą generatora ozonu (Aqua Medic Ozone 50). Stężenie ozonu wynosiło 100 ppb i było regulowane oraz monitorowane za pomocą analizatora fotometrycznego ozonu (Thermo Environmental Instruments INC. Ty 49C, USA) wyposażonego w system autokalibracji (Ryc. 8A) [Skoczowski in., 2000]. Rośliny kontrolne umieszczano w takich samych plastikowych pojemnikach i utrzymywano w atmosferze o naturalnym stężeniu ozonu tj. 2 – 5 ppb.

A**B**

Ryc. 7. A – Skład spektralny światła emitowanego przez diody LED w komorze fitotronowej: linia czerwona – RGL (światło czerwono-zielono-niebieskie); linia biała – WL (światło białe); linia niebieska – WBL (światło biało-niebieskie). B – Widok ogólny na zestaw do fumigacji ozonem z zestawem matryc LED.



Ryc. 8. Zestaw do regulacji stężenia ozonu w komorach fumigacyjnych (A) oraz wytwornica tlenu (B). [Projekt i wykonanie: A. Skoczowski i K. Mozdzeń].

3.4. Morfometria roślin

3.4.1. Analiza biometryczna

Analiza biometryczna organów mchów została wykonana przy pomocy lupy z podziałką (Hund Wetzlar FLQ150, Niemcy). Przeprowadzono pomiary długości chwytników (ryzoidów), ulistnionych łodyżek (gametoforów) oraz całych gametofitów mchów (jednocześnie chwytnika i łodyżki), zarówno w warunkach kontrolnych jak i stresu ozonowego.

3.4.2. Oznaczenia świeżej i suchej masy oraz procentowej zawartości wody

Dla każdego z badanych gatunków mchów w trzech różnych składach spektralnych światła i w warunkach stresu ozonowego wyznaczono świeżą masę (ŚM). W celu wyznaczenia suchej masy (SM), materiał roślinny zamrażano w temp. $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$, a następnie liofilizowano przez 48 h (Scanvac CoolSafe™ PRO 55-4, Dania). Na podstawie uzyskanych wyników ŚM i SM obliczono zawartość wody według wzoru:

$$\% \text{H}_2\text{O} = 100 - ((\text{SM} \cdot 100) / \text{ŚM})$$

gdzie|:

% H_2O – procentowa zawartość wody,

Pomiary wykonano na gametofitach mchów bez rozdzielania na chwytnik i gametofor.

3.5. Pomiar przepuszczalności błon plazmatycznych w gametoforach mchów

Przepuszczalność błon plazmatycznych wyznaczono poprzez pomiar wypływu elektrolitów, który wykonano według metody opisanej przez Nezamiego i in. [2010]. Pojedyncze gametofory mchów umieszczano w polipropylenowych probówkach, w 15 ml wody dejonizowanej o przewodności właściwej $0,05\text{ }\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ i wytrząsano przez 3 godziny na wytrząsarce. Następnie dyfuzaty mieszano na vortex-ie przez 15 minut i mierzono elektroprzewodnictwo dyfuzatów (L_z) przy użyciu konduktometru (CX-701 Elmetron, Polska) z elektrodą o stałej $K = 1,04$. Następnie materiał roślinny umieszczony w probówkach z wodą zamrażano w temp. $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ na 24 godziny, w celu maceracji tkanek. Po rozmrożeniu, próbki z materiałem roślinnym poddawano tej samej procedurze wytrząsania jak opisana powyżej. Następnie wykonano pomiar elektroprzewodnictwa roztworu w celu oznaczenia całkowitej zawartości elektrolitów

w tkance (L_M). Oznaczenia procentowego wypływu elektrolitów (EL) z błon komórkowych gametoforów badanych gatunków mchów wykonano według poniższego wzoru:

$$EL = (L_Z / L_M) \cdot 100 \%$$

3.6. Pomiary zawartości Chl, Flv i NBI

3.6.1. Oznaczanie zawartości Chl (metoda Barnesesa)

Pomiary zawartości Chl wykonano na gametoforach mchów *P. cuspidatum*, *P. formosum*, *P. schreberi* według metody Barnesesa i in. [1992]. Pojedyncze, ulistnione łodyżki mchów ważono (W [g]) i umieszczano w polipropylenowych pojemnikach z 3 ml (V) DMSO (Sigma-Aldrich, USA). Chl ekstrahowano w temp. 65 °C przez 12 godzin. Zawartość Chl w ekstraktach wyznaczano spektrofotometrycznie (Cecil Instruments 9500, Wielka Brytania) poprzez pomiar absorbancji ekstraktów przy dwóch długościach fali: 648 i 665 nm (odpowiednio: A_{648} i A_{665}). Na podstawie wykonanych pomiarów wyznaczono zawartość Chl *a*, Chl *b* oraz całkowitą zawartość Chl (Chl *a* + *b*) według wzorów:

$$\text{zawartość Chl } a = \frac{(14,85 \cdot A_{665} - 5,14 \cdot A_{648}) \cdot V}{1000 \cdot W}$$

$$\text{zawartość Chl } b = \frac{(25,48 \cdot A_{648} - 7,36 \cdot A_{665}) \cdot V}{1000 \cdot W}$$

$$\text{zawartość Chl } a + b = \frac{(7,49 \cdot A_{665} - 20,34 \cdot A_{648}) \cdot V}{1000 \cdot W}$$

Ilość Chl przeliczano na zawartość w świeżej masie z dokładnością do $\pm 0,0001$ g.

3.6.2. Oznaczanie zawartości Chl, Flv i wyznaczenie wskaźnika NBI (Dualetx®)

Oznaczenia zawartości Chl, Flv oraz wartości wskaźnika NBI wykonano za pomocą przenośnego chlorofilomierza (Dualetx® *Force-A*, Francja), zgodnie z instrukcją dostarczoną przez producenta.

Pomiary wykonano na gametoforach mchów, które umieszczano w klipsie pomiarowym wyposażonym w źródła światła LED: UV-A, Red, NIR, umożliwiające określenie:

- zawartości Chl przez stosowanie różnych długości fali w czerwieni i w podczerwieni, o wartościach w przedziale 0 – 200 $\mu\text{g} / \text{cm}^2$,
- zawartości Flv przez pomiar absorbancji naskórka w ultrafioletowym zakresie optycznym, jako różnicę fluorescencji Chl w czerwonej i bliskiej podczerwieni od 0 do 3,5 $\mu\text{g} / \text{cm}^2$,
- wartości wskaźnika indeksu azotowego (NBI), jako stosunku zawartości Chl do Flv.

3.7. Pomiar fluorescencji Chl *a* przy użyciu fluorymetru – fluorcam

Pomiary fluorescencji Chl *a* wykonano według metody Lichtenthalera i in. [2004a], przy użyciu zamkniętego fluorymetru FluorCam FC 800C (Photon Systems Instruments, Czechy).

Ulistnione łądźki mchów (w ilości od 5 do 10) umieszczano w komorze pomiarowej fluorymetru na szalkach Petriego, z bibułą filtracyjną zwilżoną wodą destylowaną. W celu wygaszenia fazy świetlnej fotosyntezy materiał roślinny aklimatyzowano do ciemności przez 30 minut. Następnie przy użyciu programu FluorCam 6 (wersja 0.5.2.19) – *Quenching analysis* wykonywano pomiar fluorescencji Chl *a*, w strumieniu światła o natężeniu PAR 4,000 mol (fotonów) · m⁻² · s⁻¹, przez 800 ms. Ze względu na charakter destrukcyjny zastosowanej metody, pomiary wykonywano każdorazowo na innych gametoforach mchów.

Dla każdego z badanych obiektów wykonano oznaczenia następujących parametrów fluorescencji: F₀, F_m, F_t, F_v/F_m, Q_p, NPQ, Rfd oraz QY.

3.8. Pomiar aktywności metabolicznej metodą kalorymetrii izotermicznej

Pomiary kalorymetryczne wykonano przy użyciu kalorymetru izotermicznego (TAM III Thermometric 310,1 Szwecja) w temperaturze 20 °C według metody opisanej przez Skoczowskiego i in. [2011a i b].

W szklanych naczyniach o średnicy 1 cm umieszczano krążek bibuły filtracyjnej i zwilżano go 200 μl wody destylowanej. Następnie do naczyń wkładano po 5 gametofitów i całość zamykano w metalowych, przewietrzanych, ampułach

pomiarowych. Każda ampula pomiarowa posiadała tzw. ampulę odniesienia, w skład której wchodziło szklane naczynie ze zwilżonym krążkiem bibuły, umieszczone w ampule metalowej. Ampuły poddawano 15-to minutowej stabilizacji w szybie kalorymetru, po czym opuszczano je do pozycji pomiarowej i stabilizowano dalej przez 30 minut. Po wystabilizowaniu próbki załączano pomiar przy użyciu programu *TAM Assistant* i przez 24 godziny monitorowano intensywność emisji ciepła. Na podstawie otrzymanych wyników wyznaczono specyficzną aktywność metaboliczną gametofitów, dzieląc wartości krzywych specyficznego ciepła przez świeżą masę próbki. Całkowitą specyficzną energię cieplną wyznaczono przez scałkowanie powierzchni pod krzywą mocy cieplnej w funkcji czasu, w przeliczeniu na świeżą masę badanych gametofitów mchów.

3.9. Pomiar widm emisji fluorescencji niebiesko-zielonej i czerwonej liści mchów

Pomiary widm emisyjnych fluorescencji liści wybranych gatunków mchów wykonano według metody Lichtenthalera i in. [2004b] przy użyciu spektrofluorymetru (Perkin-Elmer LS55B, Wielka Brytania) wyposażonego w przystawkę do pomiaru ciał stałych (tzw. Front Surface accessory – 52123130).

Ze względu na małe rozmiary liści mchów próbki pomiarowe przygotowano w pojemniku do pomiaru ciał sypkich, zaprojektowanym przez firmę Perkin Elmer. Na jednym z dwóch kwarcowych szkiełek o średnicy 1 cm umieszczano krążek bibuły filtracyjnej, który zwilżano wodą destylowaną. Za pomocą pęsety nakładano na krążek liście mchów tak, aby przylegały ale nie nakładały się na siebie. Tak przygotowany materiał roślinny nakrywano drugim szkiełkiem i całość umieszczano w metalowym pierścieniu opisanej powyżej przystawki. Pomiary intensywności fluorescencji górnej strony liści wykonano w zakresie światła niebiesko-zielonego (430 – 650 nm) przy wzbudzeniu światłem 390 nm oraz bliskiej i dalekiej czerwieni (650 – 800 nm) przy wzbudzeniu światłem niebieskim 430 nm. Szczelina dla promienia wzbudzającego wynosiła 15 nm, a dla emitowanego 20 nm. Wyniki pomiarów zbierano i analizowano korzystając z programu *FL WinLab* version No. 3.00.

3.10. Oznaczanie izoform SOD u *Plagiomnium cuspidatum*

3.10.1. Ekstrakcja białka całkowitego

Ekstrakcję rozpuszczalnych białek przeprowadzono w 50 mM buforze fosforanowym, o pH 7,8, zawierającym 1 mM dithiotreitol (DTT) i 3 mM EDTA. Zamrożone gametofory *P. cuspidatum* homogenizowano w moździerzu, w buforze ekstrakcyjnym, w stosunku 1:3 (tkanka:bufor; w:v). Zawiesinę przenoszono do probówek eppendorfa i odwirowywano przez 6 minut, przy 14,000 obrotów / min (Z36HK-Herlme Labortechnik, Niemcy). Cały proces prowadzono w temperaturze 4 °C. Ilość białka określono z zastosowaniem metody Bradforda [1976] wykorzystując gotowy roztwór Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, USA).

3.10.2. Analiza rozdziału białek metodą elektroforezy natywnej na żelach poliakrylamidowych PAGE SOD

Rozdzielanie frakcji rozpuszczalnych białek przeprowadzono za pomocą standardowej metody (bez SDS) PAGE, w systemie buforowym opisanym przez Laemmliego [1970], w temperaturze 4 °C i 180 V. Izoformy SOD na 12 % żelu poliakrylamidowym (PAA) wizualizowano zgodnie z procedurą barwienia opisaną przez Beauchampa i Fridovicha [1971]. Na każde pasmo elektroforetyczne nakładano 10 µg ekstraktu białkowego. W celu identyfikacji formy SOD, żełe wybarwiono w buforach zawierających 5 mM H₂O₂ lub 2 mM KCN i inkubowano przez 30 minut w ciemności, w temperaturze pokojowej, a następnie wystawiono na światło białe, aż pasma aktywności SOD stały się widoczne. Żele skanowano i analizowano metodą densytometryczną przy użyciu programu ImageJ (NIH, USA-licencja GPL).

3.11. Analiza statystyczna

Przedstawione w pracy wyniki stanowią wartości średnie z 10 niezależnych powtórzeń biologicznych ± SE. Istotność różnic pomiędzy obiektami badano parametrycznym testem statystycznym – ANOVA/MANOVA wieloczynnikowa, na podstawie wielokrotnego testu Duncana dla grup jednorodnych przy $p \leq 0,05$. Wszystkie obliczenia wykonano wykorzystując program StatSoft, Inc. (2014). STATISTICA (data analysis software system), version 12. www.statsoft.com.

4. WYNIKI

4.1. Wpływ składu spektralnego światła na morfologię mchów w warunkach stresu ozonowego – analiza morfometryczna

Niezależnie od stresu ozonowego już sam skład spektralny światła wpływał na wielkość chwytników (Tab. 1 – kontrola). I tak, u *P. cuspidatum* WBL istotnie hamowało wzrost chwytników w porównaniu do WL i RGBL. U *P. formosum* obserwowano natomiast stymulację wzrostu wydłużeniowego na RGBL w porównaniu do WL i WBL. Jedynie u *P. schreberi* skład spektralny światła nie miał istotnego wpływu na wielkość badanych organów.

U roślin *P. formosum* i *P. schreberi* rosnących na WL nie zaobserwowano istotnego wpływu ozonu na długość chwytników. Jednakże w przypadku *P. cuspidatum* ozon powodował istotne zahamowanie ich wzrostu. Stres ozonowy wywoływał także spowolnienie wzrostu chwytników u *P. cuspidatum* i *P. schreberi* rosnących na RGBL. Z kolei na WBL, jedynie u *P. schreberi* obserwowano zahamowanie wzrostu chwytników u roślin traktowanych ozonem (Tab. 1).

U roślin kontrolnych rosnących na WL długość gametoforów była większa niż u roślin rosnących na RGBL oraz WBL. Wyjątek stanowi jedynie *P. cuspidatum* rosnący na RGBL, w przypadku którego wykazano brak istotnych statystycznie różnic w długości gametoforu w porównaniu do WL (Tab. 1).

W warunkach stresu ozonowego, długość gametoforów mchów rosnących na WL była istotnie mniejsza u wszystkich badanych gatunków w porównaniu do kontroli. Z kolei na RGBL, istotne zahamowanie wzrostu elongacyjnego gametoforów przez ozon zaobserwowano jedynie u *P. cuspidatum*. W tych samych warunkach ozon stymulował bowiem ich wzrost u roślin *P. formosum* i pozostawał bez wpływu na wzrost gametoforów *P. schreberi*. Na WBL ozon stymulował wzrost gametoforów u *P. cuspidatum*. Nie miał jednak wpływu na zmiany ich długości u *P. formosum* oraz *P. schreberi* (Tab. 1).

W warunkach kontrolnych, na WL gametofity trzech gatunków mchów były istotnie krótsze w stosunku do gametofitów rosnących na RGBL. Istotny wzrost gametofitów *P. cuspidatum* i *P. formosum* zaobserwowano na RGBL względem roślin rosnących na WBL. Z kolei u *P. schreberi* różnice stwierdzono pomiędzy roślinami rosnącymi na WL a roślinami na RGBL i WBL (Tab. 1).

Tab. 1. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na długość chwytników, gametoforów i gametofitów u mchów; *Pc* – *Plagiomnium cuspidatum*, *Pf* – *Polytrichastrum formosum*, *Ps* – *Pleurozium schreberi*. Wartości oznaczone różnymi literami (w obrębie jednego wiersza) różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Gatunek	Skład spektralny światła					
	WL		RGBL		WBL	
	Kontrola	Ozon	Kontrola	Ozon	Kontrola	Ozon
Długość chwytnika [cm]						
<i>Pc</i>	1,12 ^{ab}	0,84 ^c	1,23 ^a	0,70 ^c	0,71 ^c	0,92 ^{bc}
<i>Pf</i>	4,03 ^b	3,68 ^b	5,14 ^a	6,10 ^a	3,02 ^b	3,51 ^b
<i>Ps</i>	3,92 ^{ab}	3,62 ^b	4,55 ^a	2,8 ^c	3,92 ^{ab}	2,63 ^c
Długość gametoforu [cm]						
<i>Pc</i>	3,37 ^a	2,91 ^b	3,55 ^a	2,15 ^c	2,02 ^c	2,93 ^b
<i>Pf</i>	6,59 ^a	3,86 ^c	5,51 ^b	6,59 ^a	4,80 ^{bc}	3,92 ^c
<i>Ps</i>	6,34 ^a	3,74 ^{bc}	2,7 ^{cd}	2,59 ^c	4,23 ^b	4,24 ^b
Długość gametofitu [cm]						
<i>Pc</i>	4,56 ^b	3,75 ^c	5,94 ^a	2,86 ^d	3,28 ^{cd}	3,85 ^c
<i>Pf</i>	9,42 ^c	7,65 ^d	10,78 ^b	12,65 ^a	7,32 ^d	7,43 ^d
<i>Ps</i>	5,49 ^c	7,36 ^{ab}	7,83 ^a	5,34 ^c	7,59 ^{ab}	6,86 ^b

W stosunku do roślin kontrolnych, w warunkach stresu ozonowego gametofity *P. cuspidatum* i *P. formosum* rosnące na WL były zdecydowanie krótsze niż u *P. schreberi*. Rośliny *P. cuspidatum* oraz *P. schreberi* na RGBL osiągały mniejsze rozmiary w porównaniu do gametofitów *P. formosum*. Jedynie na WBL nie stwierdzono zmian w długości gametofitów u żadnego z trzech analizowanych gatunków mchów (Tab. 1).

4.2. Wpływ składu spektralnego światła na przyrost masy i uwodnienie gametofitów mchów w warunkach stresu ozonowego

Tab. 2. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na przyrost świeżej i suchej masy oraz uwodnienie gametofitów mchów; *Pc* – *Plagiomnium cuspidatum*, *Pf* – *Polytrichastrum formosum*, *Ps* – *Pleurozium schreberi*. Wartości oznaczone różnymi literami (w obrębie jednego wiersza) różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Gatunek	Skład spektralny światła					
	WL		RGBL		WBL	
	Kontrola	Ozon	Kontrola	Ozon	Kontrola	Ozon
	Świeża masa [mg]					
<i>Pc</i>	149,1 ^b	644,5 ^a	205,7 ^b	643,9 ^a	104,8 ^b	773,5 ^a
<i>Pf</i>	671,2 ^d	1269,2 ^c	0580,1 ^d	2300,4 ^a	561,2 ^d	1842,2 ^b
<i>Ps</i>	2097,0 ^b	2096,4 ^b	1926,9 ^b	2862,2 ^a	1437,9 ^b	957,8 ^c
	Sucha masa [mg]					
<i>Pc</i>	15,8 ^b	37,4 ^b	21,3 ^b	36,5 ^b	13,5 ^b	80,6 ^a
<i>Pf</i>	161,5 ^{ab}	106,3 ^c	137,1 ^{bc}	194,2 ^a	131,9 ^{bc}	142,4 ^{bc}
<i>Ps</i>	232,8 ^b	314,1 ^a	171,3 ^{bcd}	218,4 ^{bc}	126,2 ^d	151,0 ^{cd}
	Zawartość wody [%]					
<i>Pc</i>	87,04 ^{bc}	93,97 ^a	87,62 ^{bc}	94,36 ^a	85,59 ^c	91,12 ^{ab}
<i>Pf</i>	74,62 ^b	91,60 ^a	76,37 ^b	91,50 ^a	75,73 ^b	92,52 ^a
<i>Ps</i>	88,65 ^a	81,78 ^b	90,41 ^a	92,44 ^a	90,17 ^a	83,76 ^b

W warunkach kontrolnych nie zaobserwowano wpływu składu spektralnego światła na wartości świeżej masy u żadnego z badanych gatunków mchów (Tab. 2).

W warunkach stresu ozonowego wykazano wzrost świeżej masy gametofitów *P. cuspidatum* i *P. formosum* przy każdym z zastosowanych składów spektralnych światła w porównaniu do kontroli. Jedynie u *P. schreberi* na WBL stwierdzono zmniejszenie wartości świeżej masy gametofitów, a na WL nie wykazano istotnych różnic dotyczących tego parametru (Tab. 2).

W obiektach kontrolnych, w żadnym ze składów spektralnych światła nie odnotowano różnic w wartościach suchej masy badanych gatunków. Wyjątkiem okazały się tylko rośliny *P. schreberi* rosnące na WBL, które posiadały istotnie niższe wartości suchej masy w porównaniu do obiektów rosnących na WL (Tab. 2).

W porównaniu do kontroli, wartości suchej masy roślin traktowanych ozonem u *P. cuspidatum* były ogólnie podobne, za wyjątkiem roślin rosnących na WBL. U *P. formosum* wartości suchej masy były istotnie niższe na WL, a wyższe na RGBL. U *P. schreberi* istotne różnice suchej masy zaobserwowano jedynie przy spektrum WL (Tab. 2).

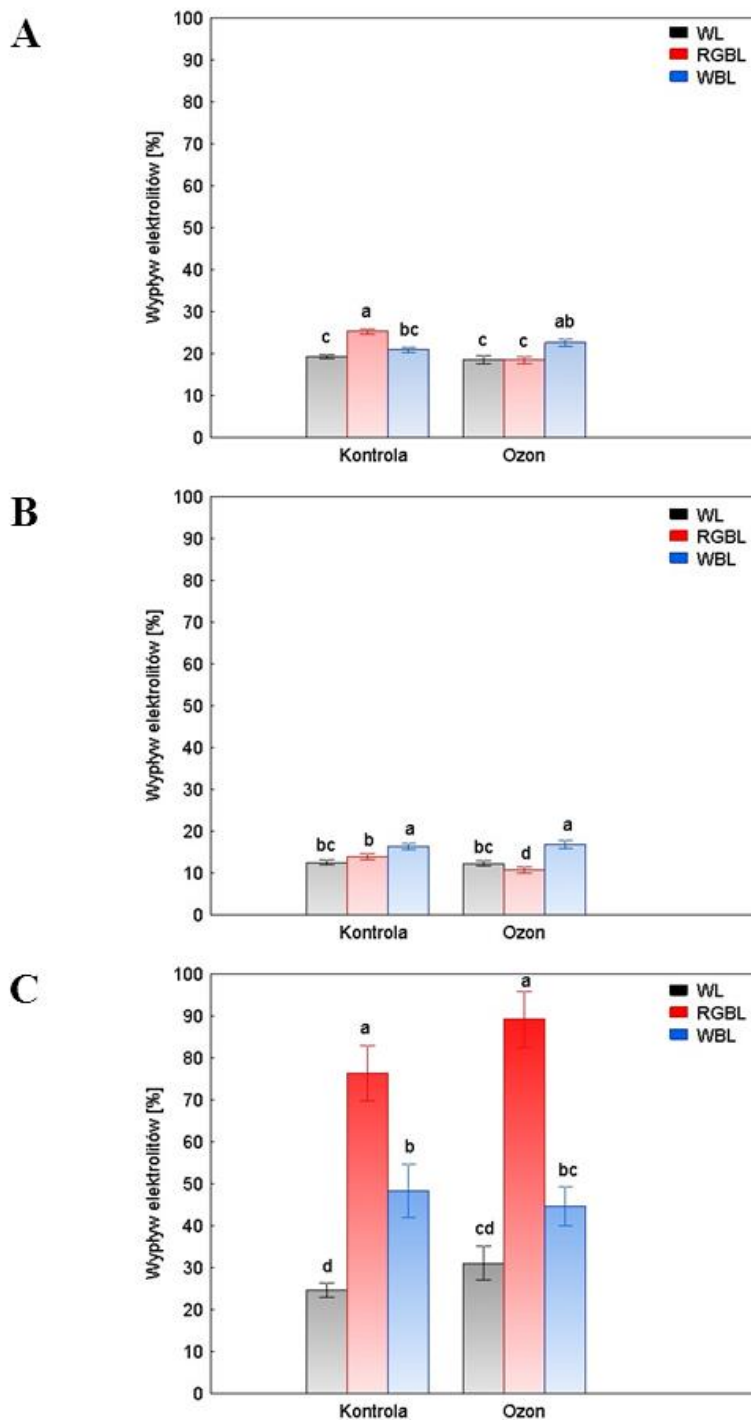
Barwa światła nie miała wpływu na procentową zawartość wody u obiektów kontrolnych. Natomiast procentowa zawartość wody w gametofitach mchów wzrastała u *P. cuspidatum* i *P. formosum* w warunkach stresu ozonowego, w każdym ze składów spektralnych światła w porównaniu do kontroli. Wyjątkiem okazał się *P. schreberi*. W tym przypadku zawartość wody malała na WL i WBL, a na RGBL nie zmieniała się (Tab. 2).

4.3. Pomiar przepuszczalności błon komórkowych gametoforów mchów

Przeprowadzone w warunkach kontrolnych pomiary przepuszczalności błon komórkowych gametoforów mchów wykazały duże zróżnicowanie gatunkowe pod względem badanej cechy (Ryc. 9A – C). I tak, najniższą przepuszczalnością błon komórkowych (najniższą wartością wypływu elektrolitów) charakteryzował się gatunek *P. formosum*, u którego przepuszczalność plazmolemy wynosiła od 10 do 15 % całkowitego wypływu elektrolitów (Ryc. 9B). Największy wypływ elektrolitów z komórek stwierdzono z kolei u gametoforów *P. schreberi* – od 25 do około 80 % (Ryc. 9C). Pośrednie wartości przepuszczalności plazmolemy (od 20 do 30 %) stwierdzono u roślin *P. cuspidatum* (Ryc. 9A).

Jak pokazano na Ryc. 9, już sam skład spektralny światła wpływał na przepuszczalność błon komórkowych w gametoforach mchów. I tak, u *P. cuspidatum* rosnącego na RGBL przepuszczalność membran plazmatycznych była nieznacznie, ale istotnie wyższa niż na WL i WBL (Ryc. 9A). U *P. formosum* WBL podnosiło nieznacznie przepuszczalność plazmolemy w stosunku do wartości obserwowanych na WL i RGBL (Ryc. 9B). Jednakże najbardziej spektakularne zmiany przepuszczalności membran komórkowych w zależności od składu spektralnego światła zaobserwowano u *P. schreberi*. W tym

przypadku rośliny rosnące na RGLB oraz WBL wykazywały od 2 do 3 razy większą przepuszczalność plazmolemy niż te na WL (Ryc. 9C).



Ryc. 9. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGLB oraz WBL) na przepuszczalność membran plazmatycznych w komórkach gametoforów: A – *Plagiomnium cuspidatum*, B – *Polytrichastrum formosum*, C – *Pleurozium schreberi*. Wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

W warunkach stresu ozonowego, jedynie u *P. cuspidatum* i *P. formosum* rosnących na RGBL obserwowano obniżenie wypływu elektrolitów przez błony komórkowe w porównaniu do kontroli (Ryc. 9A i B). W pozostałych składach spektralnych światła, u wszystkich trzech gatunków, nie obserwowano istotnych statystycznie zmian w przepuszczalności błon komórkowych pod wpływem ozonu (Ryc. 9).

4.4. Określenie zawartości Chl w gametoforach mchów (metoda Barnesesa)

W warunkach kontrolnych u *P. formosum* i *P. schreberi* następował wzrost zawartości Chl *a* na WL w stosunku do roślin rosnących na RGBL i WBL. W przypadku *P. cuspidatum* nie obserwowano zmian w zawartości Chl *a* u roślin rosnących na WL oraz WBL. Z kolei na RGBL stwierdzono obniżenie zawartości Chl *a* u wszystkich badanych roślin. Istotnie niższe wartości Chl *a* stwierdzono u *P. formosum* i *P. schreberi* rosnących na WBL w stosunku do tych rosnących na WL (Tab. 3).

W warunkach stresu ozonowego wykazano wzrost zawartości Chl *a* u wszystkich trzech gatunków mchów w porównaniu do kontroli. Jedynie istotnie niższe wartości Chl *a* zaobserwowano u *P. schreberi* rosnącym na WL (Tab. 3).

U kontroli największą zawartość Chl *b* posiadały rośliny rosnące na WL, a najmniejszą na RGBL. Z kolei na WBL, zawartość Chl *b* była mniejsza u *P. formosum* i *P. schreberi* w porównaniu do roślin rosnących na WL. U *P. cuspidatum* zawartość Chl *b* na WBL nie ulegała zmianom w stosunku do roślin rosnących na WL, a wzrastała w porównaniu do okazów rosnących na RGBL (Tab. 3).

U *P. cuspidatum* i *P. formosum* zawartość Chl *b* w warunkach stresu ozonowego wzrastała w każdym ze składów spektralnych światła w porównaniu do kontroli. W przypadku *P. schreberi* zaobserwowano obniżenie zawartości Chl *b* u roślin rosnących na WL oraz brak wpływu światła w warunkach stresu ozonowego, w pozostałych dwóch składach spektralnych (Tab. 3).

Tab. 3. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na zawartość Chl *a*, Chl *b* oraz wartość stosunku zawartości Chl *a/b* w gametoforach badanych mchów; *Pc* – *Plagiomnium cuspidatum*, *Pf* – *Polytrichastrum formosum*, *Ps* – *Pleurozium schreberi*. Wartości oznaczone różnymi literami (w obrębie jednego wiersza) różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Gatunek	Skład spektralny światła					
	WL		RGBL		WBL	
	Kontrola	Ozon	Kontrola	Ozon	Kontrola	Ozon
Zawartość Chl <i>a</i> [mg/gśM]						
<i>Pc</i>	0,55 ^b	0,98 ^a	0,38 ^c	1,01 ^a	0,64 ^b	0,87 ^a
<i>Pf</i>	1,15 ^c	1,34 ^b	0,67 ^d	1,20 ^{bc}	0,63 ^d	1,57 ^a
<i>Ps</i>	1,22 ^a	0,41 ^d	0,31 ^d	0,64 ^{bc}	0,48 ^{cd}	0,74 ^b
Zawartość Chl <i>b</i> [mg/gśM]						
<i>Pc</i>	0,13 ^c	0,26 ^a	0,08 ^d	0,24 ^{ab}	0,11 ^c	0,21 ^b
<i>Pf</i>	0,28 ^d	0,35 ^c	0,15 ^e	0,70 ^a	0,14 ^e	0,45 ^b
<i>Ps</i>	0,30 ^a	0,08 ^b	0,09 ^b	0,15 ^b	0,11 ^b	0,12 ^b
Sumaryczna zawartość Chl (<i>a</i> + <i>b</i>) [mg/gśM]						
<i>Pc</i>	0,68 ^b	1,24 ^a	0,46 ^c	1,25 ^a	0,75 ^b	1,08 ^a
<i>Pf</i>	1,43 ^c	1,69 ^b	0,82 ^d	1,90 ^a	0,77 ^d	2,01 ^a
<i>Ps</i>	1,52 ^a	1,38 ^a	0,40 ^c	0,56 ^{bc}	0,59 ^{bc}	0,82 ^b
Stosunek zawartości Chl <i>a/b</i>						
<i>Pc</i>	4,36 ^{bc}	3,74 ^d	4,83 ^b	4,15 ^{cd}	5,73 ^a	4,10 ^{cd}
<i>Pf</i>	4,13 ^{ab}	3,88 ^{bc}	4,46 ^a	1,75 ^d	4,45 ^a	3,56 ^c
<i>Ps</i>	4,32 ^{bc}	4,96 ^b	3,51 ^c	4,39 ^{bc}	4,58 ^{bc}	6,33 ^a

U kontroli wykazano obniżenie zawartości Chl *a* + *b* u wszystkich trzech gatunków mchów rosnących na RGBL i WBL w odniesieniu do roślin rosnących na WL. Jedynie u *P. cuspidatum* nie wykazano różnic przy spektrach WL i WBL (Tab. 3).

U roślin *P. cuspidatum* oraz *P. formosum* fumigowanych ozonem wykazano, w każdym ze składów spektralnych światła, wzrost zawartości Chl $a + b$ w stosunku do kontroli. Jedynie u *P. schreberi* nie zaobserwowano różnic w całkowitej zawartości Chl (Tab. 3).

U kontroli, tylko u *P. cuspidatum* odnotowano istotnie wyższe wartości Chl a/b na WBL w stosunku do WL oraz RGBL. Pozostałe dwa gatunki mchów nie wykazały zmian w zawartości Chl a/b w żadnym ze składów spektralnych światła (Tab. 3).

W warunkach stresu ozonowego, u *P. cuspidatum* w każdym ze składów spektralnych światła obserwowano obniżenie stosunku zawartości Chl a/b w porównaniu do kontroli. W przypadku *P. formosum* istotnie niższe wartości Chl a/b wykazano u roślin rosnących na RGBL i WBL w porównaniu do roślin rosnących na WL. Z kolei u *P. schreberi* wzrost zawartości Chl a/b stwierdzono jedynie u roślin rosnących na WBL (Tab. 3).

4.5. Pomiar zawartości Chl, Flv oraz wskaźnika NBI w gametoforach mchów (Dualex®)

Pomiary Chl wykonane Dualexem® wykazały, że w próbie kontrolnej u *P. formosum* i *P. schreberi* odnotowano istotny wzrost zawartości Chl u roślin rosnących na WBL względem spektrów WL oraz RGBL. W przypadku *P. cuspidatum* nie wykazano wpływu składu spektralnego światła na zawartość Chl (Tab. 4).

W warunkach stresu ozonowego, w porównaniu do kontroli, następuje wzrost zawartości Chl u *P. cuspidatum* oraz *P. formosum* w każdym ze składów spektralnych światła. Z kolei u *P. schreberi* w badanych warunkach nie zaobserwowano zmian w zawartości tego barwnika (Tab. 4).

U kontroli, istotne zmiany w zawartości Flv zaobserwowano u *P. cuspidatum* i *P. schreberi*. W przypadku *P. cuspidatum* zawartość Flv była istotnie mniejsza w spektrach RGBL i WBL w porównaniu do WL. Z kolei u *P. schreberi* największą zawartość Flv zaobserwowano u roślin rosnących na RGBL w stosunku do spektrów WL oraz WBL (Tab. 4).

W warunkach stresu ozonowego, zawartość Flv wzrastała tylko u okazów *P. cuspidatum* w każdym ze składów spektralnych światła w porównaniu do kontroli. W przypadku *P. formosum* nie stwierdzono zmian w wartościach tego parametru. U *P. schreberi* na WL nie wykazano zmian, natomiast na RGBL ilość Flv malała, a tylko na WBL wzrastała (Tab. 4).

Tab. 4. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na zawartość chlorofilu (Chl), flawonoidów (Flv) oraz na wartość wskaźnika indeksu azotowego (NBI) w gametoforach mchów *Pc* – *Plagiomnium cuspidatum*; *Pf* – *Polytrichastrum formosum*, *Ps* – *Pleurozium schreberi*. Wartości oznaczone różnymi literami (w obrębie jednego wiersza) różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Gatunek	Skład spektralny światła					
	WL		RGBL		WBL	
	Kontrola	Ozon	Kontrola	Ozon	Kontrola	Ozon
	Chl [jednostka Dualex®]					
<i>Pc</i>	1,21 ^c	12,53 ^a	0,97 ^c	3,04 ^b	1,63 ^{bc}	11,86 ^a
<i>Pf</i>	2,84 ^d	7,13 ^c	5,19 ^c	16,6 ^a	12,67 ^b	15,67 ^a
<i>Ps</i>	10,56 ^b	14,6 ^b	12,81 ^b	15,65 ^b	26,14 ^a	28,14 ^a
	Flv [jednostka Dualex®]					
<i>Pc</i>	0,84 ^c	1,46 ^a	0,51 ^d	1,20 ^b	0,64 ^d	1,36 ^{ab}
<i>Pf</i>	1,65 ^a	1,68 ^a	1,52 ^a	1,68 ^a	1,66 ^a	1,69 ^a
<i>Ps</i>	2,16 ^b	2,54 ^b	2,75 ^a	2,57 ^b	2,60 ^b	2,84 ^a
	NBI [jednostka Dualex®]					
<i>Pc</i>	1,49 ^b	8,54 ^a	1,87 ^b	2,49 ^b	2,25 ^b	9,03 ^a
<i>Pf</i>	1,84 ^d	4,23 ^c	3,46 ^c	9,87 ^a	7,70 ^b	9,30 ^a
<i>Ps</i>	4,9 ^b	5,44 ^b	4,72 ^b	6,02 ^b	10,71 ^a	10,05 ^a

U *P. cuspidatum* w warunkach kontrolnych wskaźnik indeksu azotowego (NBI) przyjmował podobne wartości na WL, RGBL oraz WBL. Rośliny *P. formosum* wykazywały wzrost jego wartości na WBL w stosunku do spektrów WL oraz RGBL. Z kolei rośliny *P. schreberi* posiadały istotnie niższe wartości NBI na WL i RGBL względem obiektów rosnących na WBL (Tab. 4).

Wartość NBI w obiektach ozonowanych istotnie wzrastała u okazów *P. formosum* w każdym ze składów spektralnych światła oraz u *P. cuspidatum* rosnących na WL i WBL w porównaniu do kontroli. W przypadku *P. schreberi* nie wykazano wpływu ozonu na wartości NBI w żadnym ze składów spektralnych światła (Tab. 4).

4.6. Pomiary parametrów kinetyki fluorescencji Chl *a*

Na Ryc. 10 przedstawiono parametry fluorescencji Chl *a* w gametoforach *P. cuspidatum*, *P. formosum* i *P. schreberi* rosnących w warunkach stresu ozonowego przy różnych składach spektralnych światła (A – WL, B – RGLB, C – WBL). Dla każdego gatunku wartości parametrów wyrażono w procentach jego nefumigowanej kontroli.

Wartości F_0 wykazały istotne statystycznie różnice u *P. cuspidatum* i *P. schreberi*. W warunkach stresu ozonowego, na WL zaobserwowano wzrost wartości F_0 u *P. cuspidatum*, a jej obniżenie u *P. schreberi* na WBL w porównaniu do kontroli (Ryc. 10A i C). W przypadku *P. formosum* nie stwierdzono istotnych różnic w wartości tego parametru (Ryc. 10).

W stresie ozonowym, parametr F_m przyjmował niższe wartości u roślin *P. cuspidatum* rosnących na WBL oraz u *P. schreberi* na RGLB i WBL w porównaniu z kontrolą (Ryc. 10C). W przypadku *P. formosum* fumigacja ozonem nie miała wpływu na wartość omawianego parametru (Ryc.10).

Parametr F_t u roślin *P. cuspidatum* i *P. schreberi* fumigowanych ozonem wyłącznie na WL przyjmował istotnie wyższe wartości niż u kontroli. Ozon nie miał natomiast wpływu na zmianę wartości F_t u roślin *P. formosum* w omawianych warunkach świetlnych (Ryc. 10A). Wartość F_t u roślin *P. formosum* rosnących na RGLB i WBL wzrastała pod wpływem ozonu (Ryc. 10B i C). Jedynie u *P. schreberi* zaobserwowano zmniejszenie wartości F_t w warunkach stresu ozonowego na WBL (Ryc. 10C).

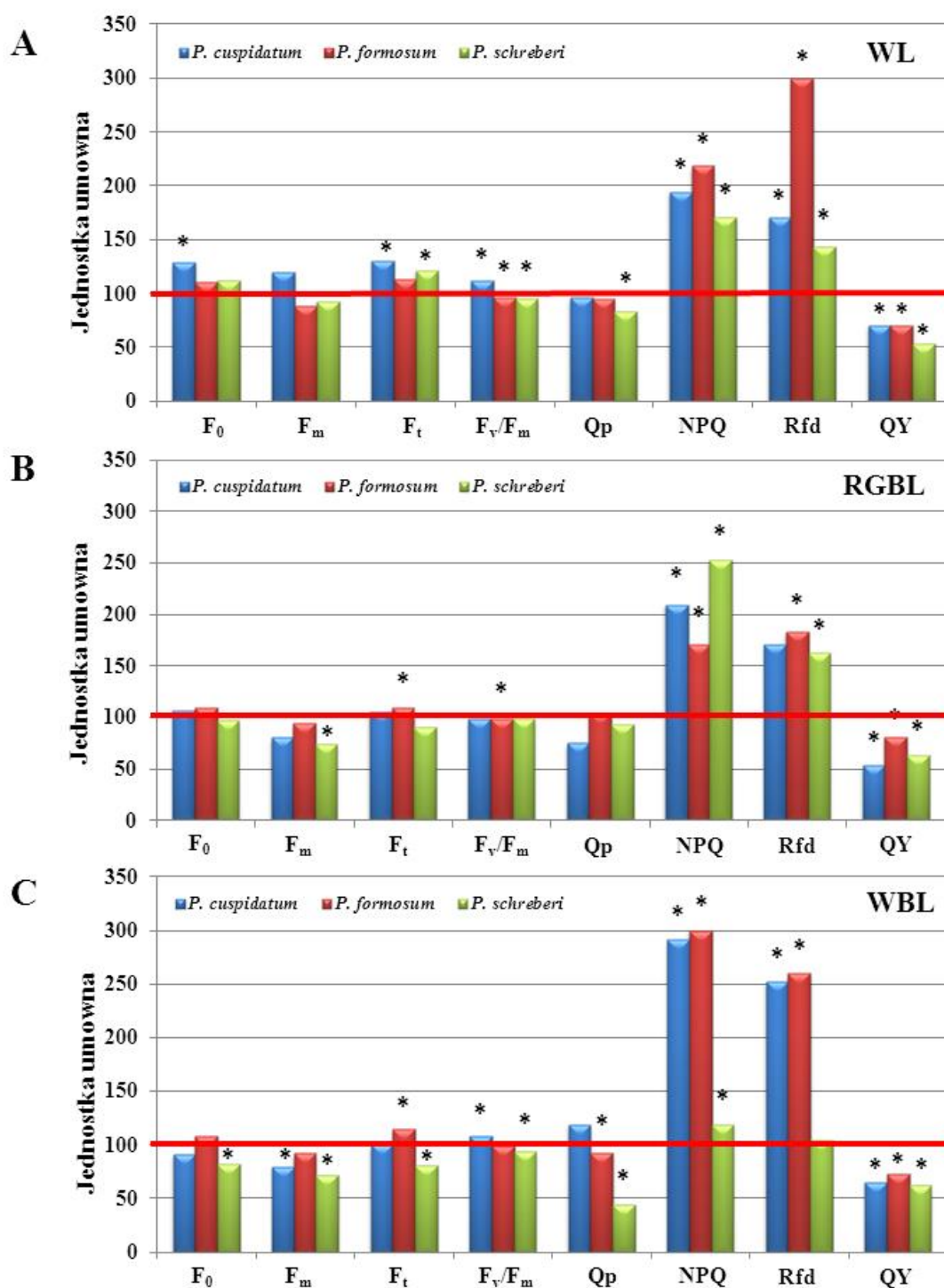
Zmiana wartości F_v/F_m w warunkach stresu ozonowego w stosunku do kontroli była zależna od gatunku oraz składu spektralnego światła. I tak, na WL i WBL wartości F_v/F_m były istotnie wyższe u *P. cuspidatum*, a niższe u *P. schreberi* (Ryc. 10A i C). U *P. formosum* istotnie niższe wartości parametru F_v/F_m stwierdzono natomiast w spektrach WL i RGLB (Ryc. 10A i B). Na WBL nie obserwowano istotnych zmian omawianego parametru (Ryc. 10C).

Parametr Q_p w warunkach stresu ozonowego wykazał istotne obniżenie wartości u *P. schreberi* na WL i WBL oraz u *P. formosum* rosnących na WBL (Ryc. 10A i C). Jedynie u *P. cuspidatum* ozon nie miał wpływu na zmianę wartości Q_p niezależnie od składu spektralnego światła (Ryc. 10).

W przypadku NPQ, u wszystkich trzech gatunków mchów w każdym ze składów spektralnych światła, wykazano istotny wzrost wartości tego parametru w warunkach stresu ozonowego, w porównaniu do kontroli (Ryc. 10).

W warunkach stresu ozonowego, wskaźnik Rfd osiągał istotnie wyższe wartości u *P. cuspidatum* na WL i WBL w porównaniu z kontrolą (Ryc. 10A i C). U *P. formosum* wzrost wartości omawianego parametru obserwowano we wszystkich składach spektralnych światła (Ryc. 10). Natomiast u roślin *P. schreberi* wzrost Rfd wykazano na WL i RGBL (Ryc. 10A i B). W pozostałych przypadkach nie stwierdzono istotnych zmian wartości Rfd pod wpływem ozonu (Ryc. 10).

U wszystkich trzech gatunków wykazano jednocześnie obniżenie wartości parametru QY w warunkach stresu ozonowego, w porównaniu do kontroli (Ryc. 10).



Ryc. 10. Porównanie parametrów fluorescencji Chl *a*, wyrażonych jako procent niefumigowanej kontroli, w gametoforach *P. cuspidatum* – *Plagiomnium cuspidatum*, *P. formosum* – *Polytrichastrum formosum*, *P. schreberi* – *Pleurozium schreberi* rosnących w warunkach stresu ozonowego przy różnych składach spektralnych światła (A – WL, B – RGBL, C – WBL). Gwiazdka nad słupkiem oznacza istotną statystycznie zmianę wartości parametru w stosunku do kontroli przedstawionej jako 100% (linia czerwona).

4.7. Intensywność przebiegu procesów metabolicznych

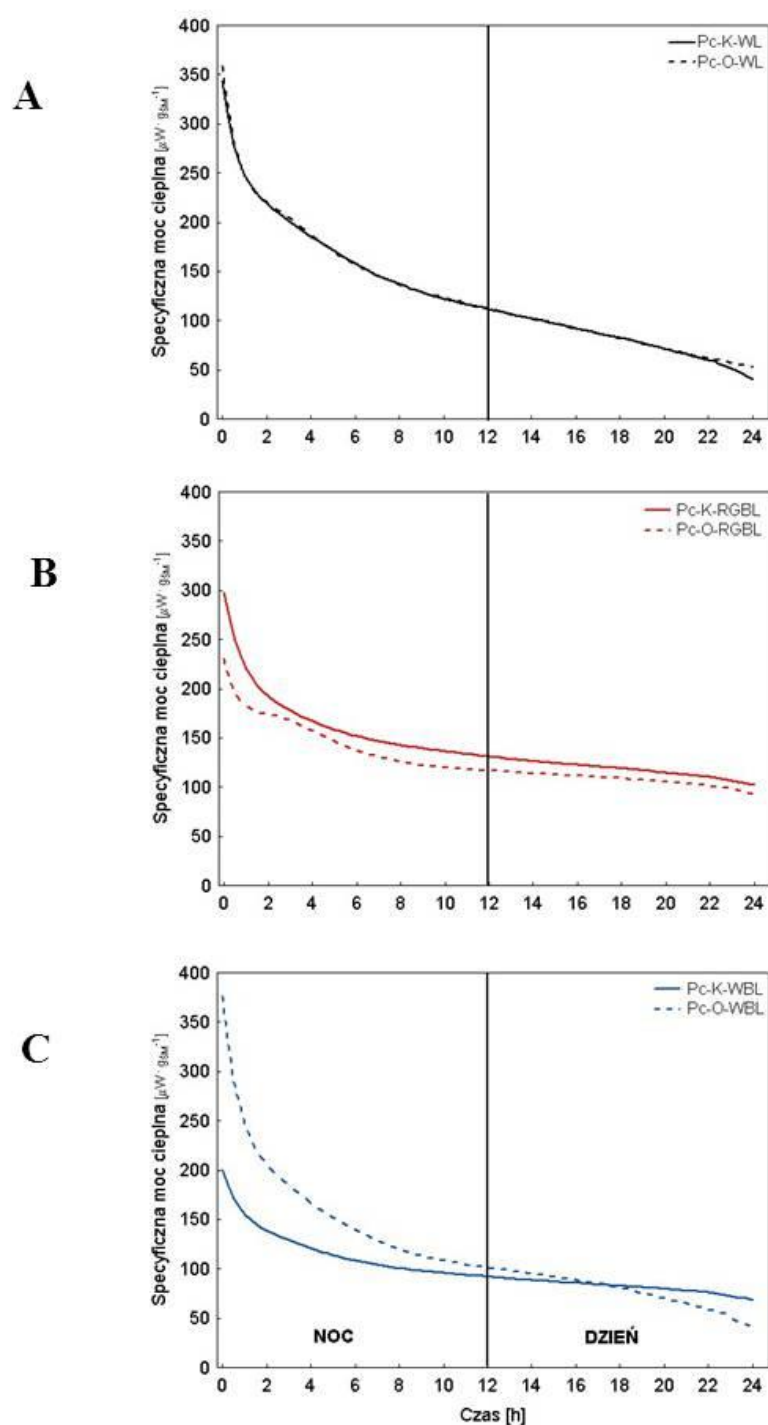
4.7.1. Wyznaczenie krzywych specyficznej mocy cieplnej wyemitowanej przez gametofity mchów

Pomiary kalorymetryczne wykonywane są w ciemności, dlatego rozpoczynano je w momencie, kiedy gametofity rosnące w komorach fumigacyjnych wchodziły w swoją naturalną noc. Reasumując, pomiary emisji ciepła z gametofitów prowadzono przez 24 godziny tak, aby okres pomiaru obejmował najpierw noc (12 godzin), a następnie rozpoczynający się po niej dzień (12 godzin). W ten sposób uwzględniono w pomiarach aktywność metaboliczną mchów związaną z oddychaniem ciemniowym w nocy jak i reakcje poprzedzające nastanie dnia (zachodzące jeszcze w ciemności).

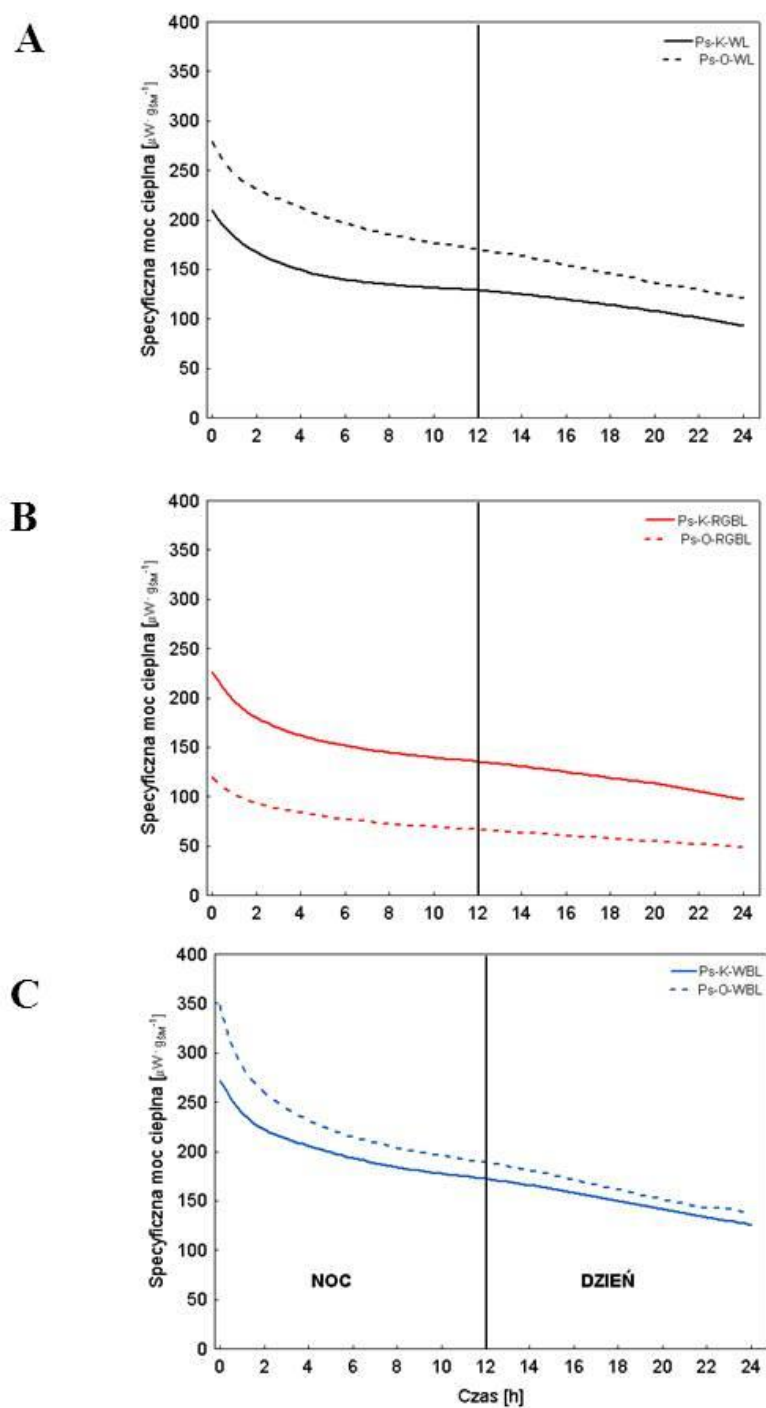
Krzywe emisji specyficznej mocy cieplnej gametofitów *P. cuspidatum* miały, niezależnie od składu spektralnego światła, podobny kształt (zbliżony do krzywej eksponencjalnej) zarówno u roślin kontrolnych jak i fumigowanych ozonem (Ryc. 11). Początkowo, przez około 4 godziny, ilość emitowanej mocy cieplnej szybko spadała, po czym dalej stopniowo obniżała się. Nie stwierdzono zmian kształtu krzywych mogących wynikać z rytmu dobowego noc / dzień (Ryc. 11). Podobne zmiany emisji mocy cieplnej towarzyszące wzrostowi gametofitów *P. cuspidatum* przez 24 godziny w ciemności zaobserwowano u mchu *P. schreberi* (Ryc. 12).

W przypadku *P. formosum* fumigacja ozonem powodowała spadek wartości specyficznej mocy cieplnej od 1 (WL) do 10 (WBL) razy w porównaniu do kontroli. Dlatego też, dla uwidocznienia różnic w przebiegu krzywych mocy cieplnej, konieczne było wprowadzenie odrębnych osi „Y” i ich skali dla obiektów fumigowanych oraz kontrolnych (Ryc. 13).

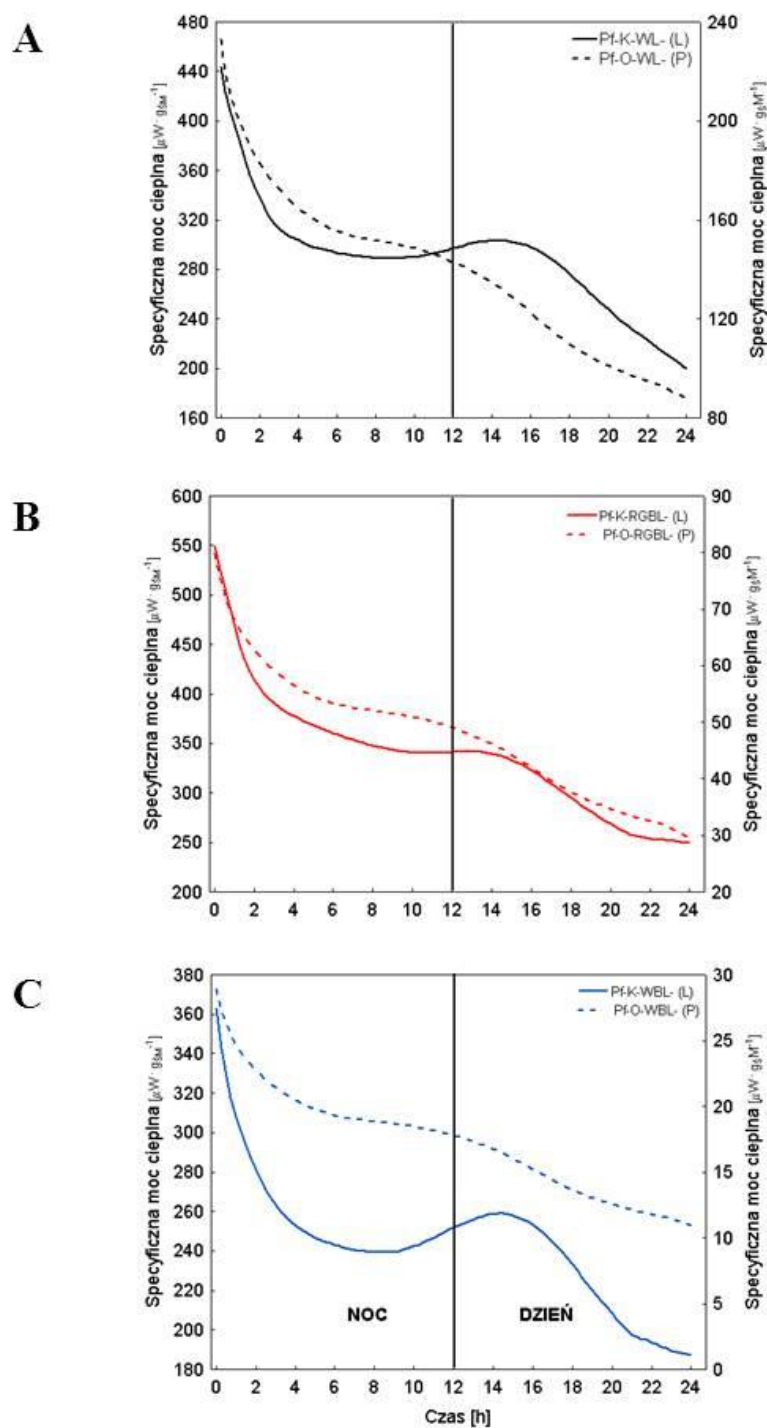
Skład spektralny światła wpływał istotnie na wartości wypływu ciepła. Były one najwyższe na RGBL, a najniższe na WBL (Ryc. 13). U obiektów kontrolnych, niezależnie od składu spektralnego światła, wydzielanie ciepła malało do około 9-tej godziny nocy (9-ta godzina pomiaru), a następnie wzrastało do 3-ej godziny dnia (15-ta godzina pomiaru) po czym ponownie malało (Ryc. 13A – C, linie ciągłe). U obiektów fumigowanych opisane zmiany są znacznie słabiej zaznaczone, niemniej jednak punkt przegięcia krzywych około 9-tej godziny nocy wydaje się być dobrze widoczny (Ryc. 13A – C, linie przerywane).



Ryc. 11. Krzywe emisji specyficznej mocy cieplnej w funkcji czasu dla gametofitów *Plagiomnium cuspidatum* rosnących w warunkach stresu ozonowego (linia przerywana) i w warunkach kontrolnych (linia ciągła), w składach spektralnych światła A – WL, B – RGL, C – WBL. Linia pionową oznaczono moment zakończenia okresu nocy podczas wzrostu roślin w komorach wegetacyjnych.

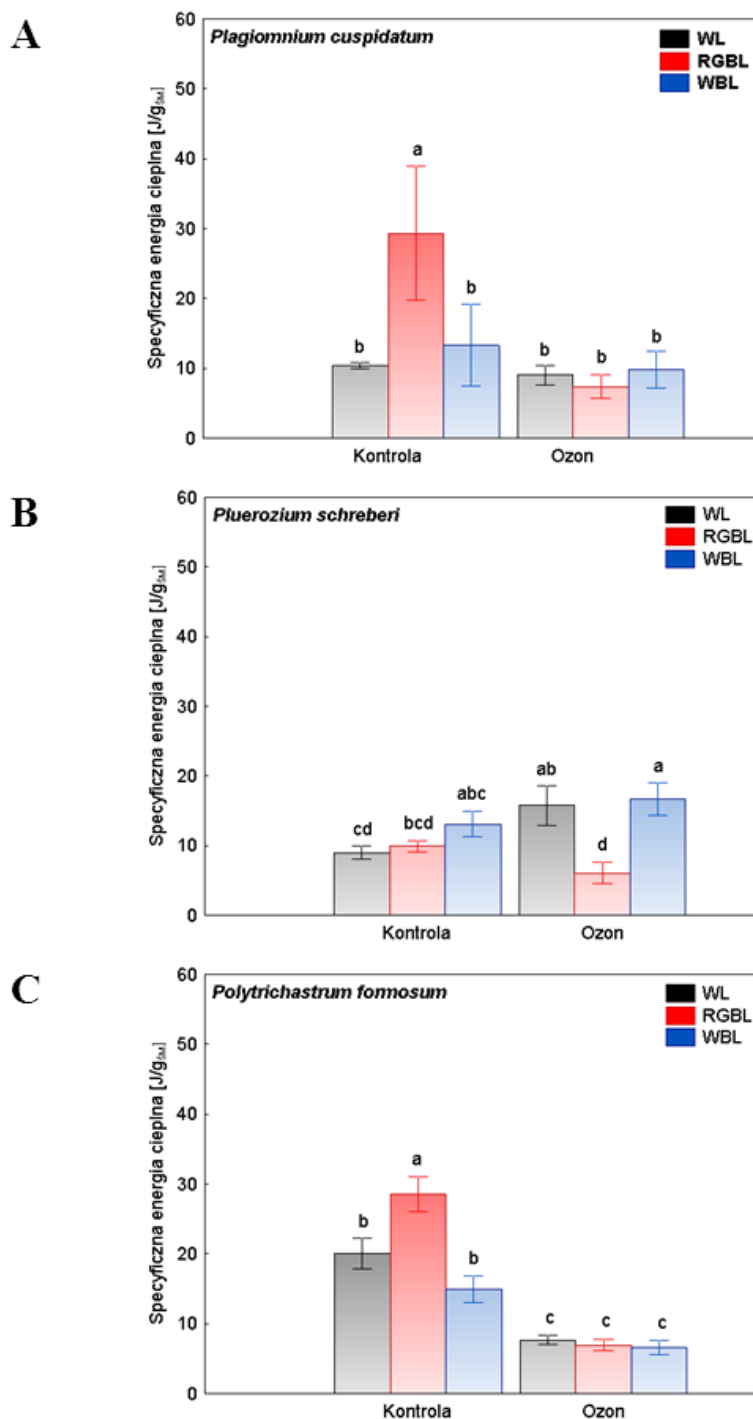


Ryc. 12. Krzywe emisji specyficznej mocy ciepłej w funkcji czasu dla gametofitów *Pleurozium schreberi* rosnących w warunkach stresu ozonowego (linia przerywana) i w warunkach kontrolnych (linia ciągła), w składach spektralnych światła A – WL, B – RGBL, C – WBL. Linią pionową oznaczono moment zakończenia okresu nocy podczas wzrostu roślin w komorach wegetacyjnych.



Ryc. 13. Krzywe emisji specyficznej mocy cieplnej w funkcji czasu dla gametofitów *Polytrichastrum formosum* rosnących w warunkach stresu ozonowego (prawa oś „Y” – linia przerywana) i w warunkach kontrolnych (lewa oś „Y” – linia ciągła), w składach spektralnych światła A – WL, B – RGBL, C – WBL. Linią pionową oznaczono moment zakończenia okresu nocy podczas wzrostu roślin w komorach vegetacyjnych.

4.7.2. Pomiar całkowitej specyficznej energii cieplnej wyemitowanej przez gametofity mchów



Ryc. 14. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na wartości całkowitej energii cieplnej [J/g_{SM}] emitowanej przez gametofity mchów; A – *Plagiomnium cuspidatum*, B – *Pleurozium schreberi*, C – *Polytrichastrum formosum*. Wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Na rycinie 14 przedstawiono wartości specyficznej energii cieplnej wyemitowanej przez gametofity badanych gatunków mchów w zależności od stresu ozonowego i barwy światła. Wartości te są proporcjonalne do aktywności metabolicznej gametofitów.

Jeśli chodzi o sam wpływ składu spektralnego światła na aktywność metaboliczną gametofitów, to jedynie u *P. cuspidatum* oraz *P. formosum* RGBL powodował wzrost tej aktywności (Ryc. 14 A – C).

W przypadku *P. cuspidatum* ozon obniżał istotnie aktywność metaboliczną roślin jedynie podczas wzrostu na RGBL (Ryc. 14A). U *P. schreberi* stres ozonowy zwiększał natomiast aktywność metaboliczną na WL (Ryc. 14B). *P. formosum* wydaje się być gatunkiem bardzo wrażliwym na działanie ozonu, ponieważ gaz ten powoduje istotny spadek aktywności metabolicznej gametofitów przy wszystkich składach spektralnych światła (Ryc. 14C).

4.8. Pomiary niebiesko-zielonej i czerwonej fluorescencji liści mchów

4.8.1. Wyznaczanie widm fluorescencji niebiesko-zielonej i czerwonej

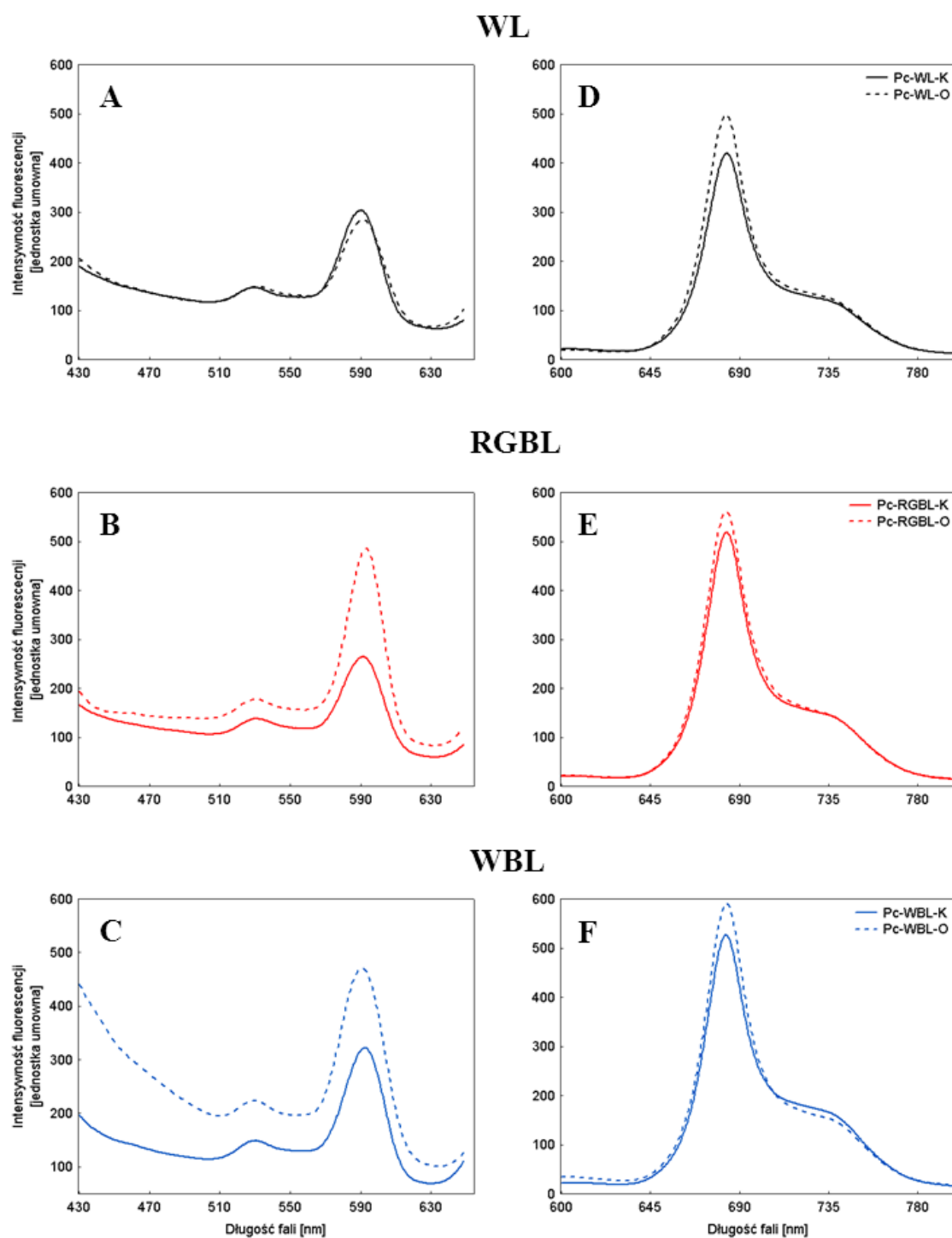
Kształt widm fluorescencji niebiesko-zielonej i czerwonej u *P. cuspidatum*, *P. formosum* oraz *P. schreberi* jest bardzo podobny (Ryc. 15A – F, 16A – F, 17A – F).

U wszystkich badanych gatunków widma fluorescencji niebiesko-zielonej charakteryzowały się niewielkim pikiem przy około 530 nm i drugim, znacznie większym, przy 590 nm (Ryc. 15 – 17, A – C). Skład spektralny światła wpływał jednak na intensywności fluorescencji przy 530 oraz 595 nm.

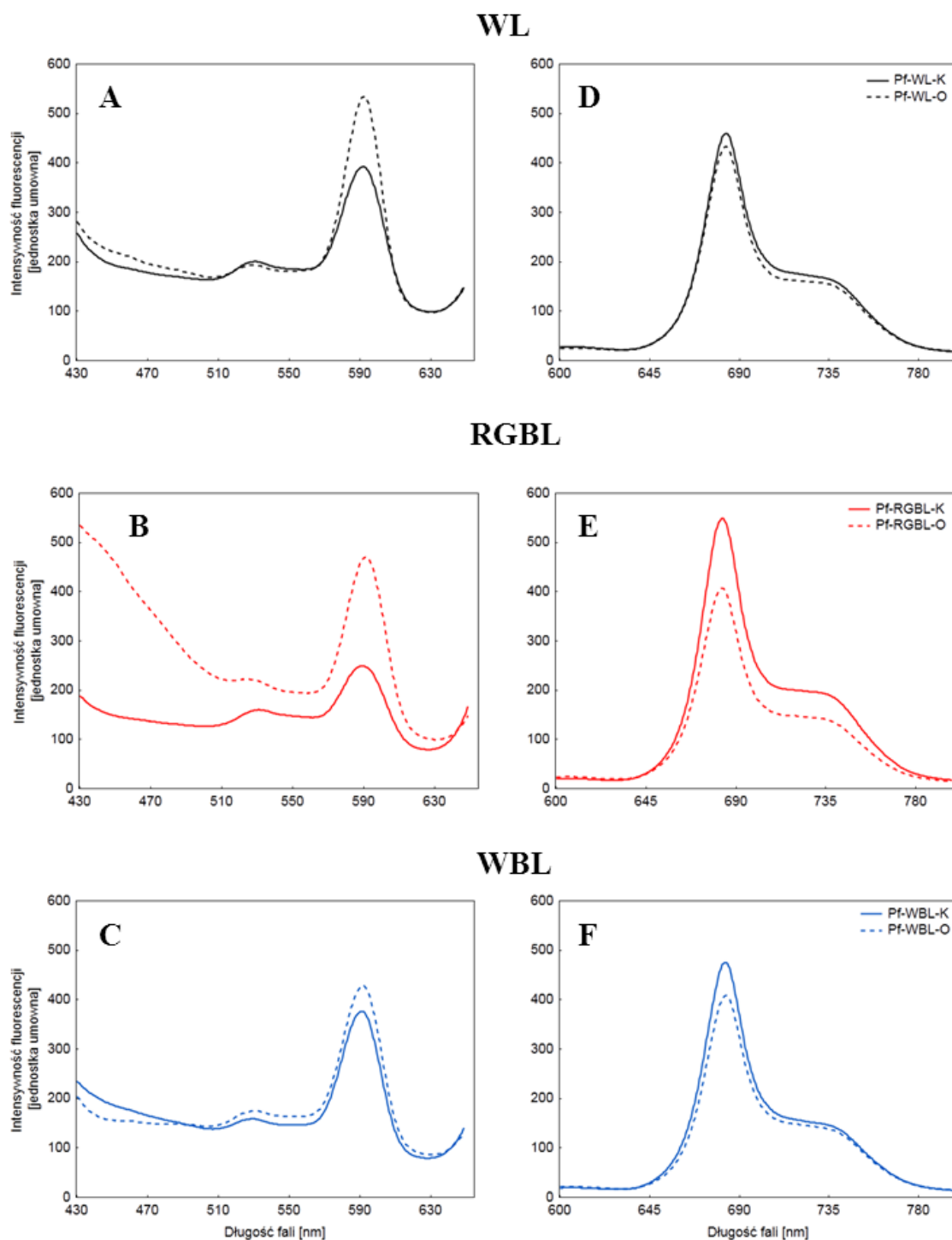
U *P. cuspidatum* i *P. formosum* stres ozonowy powodował wzrost intensywności fluorescencji niebiesko-zielonej w stosunku do kontroli i niezależnie od składu spektralnego światła (Ryc. 15B i C oraz 16A – C). Wyjątek stanowią jedynie rośliny *P. cuspidatum* rosnące na WL, u których ozon nie zmieniał intensywności fluorescencji w stosunku do kontroli (Ryc. 15A). W przeciwieństwie do omawianych powyżej gatunków, rośliny *P. schreberi* w warunkach stresu ozonowego reagowały obniżeniem intensywności fluorescencji niebiesko-zielonej w stosunku do kontroli zwłaszcza przy 590 nm (Ryc. 17A – C).

W przypadku fluorescencji czerwonej, u wszystkich badanych mchów (zarówno u roślin kontrolnych jak i fumigowanych ozonem) obserwowano silny pik fluorescencji przy około 690 nm z bardzo wyraźnym ramieniem przy 735 nm (Ryc. 15 – 17 E – D).

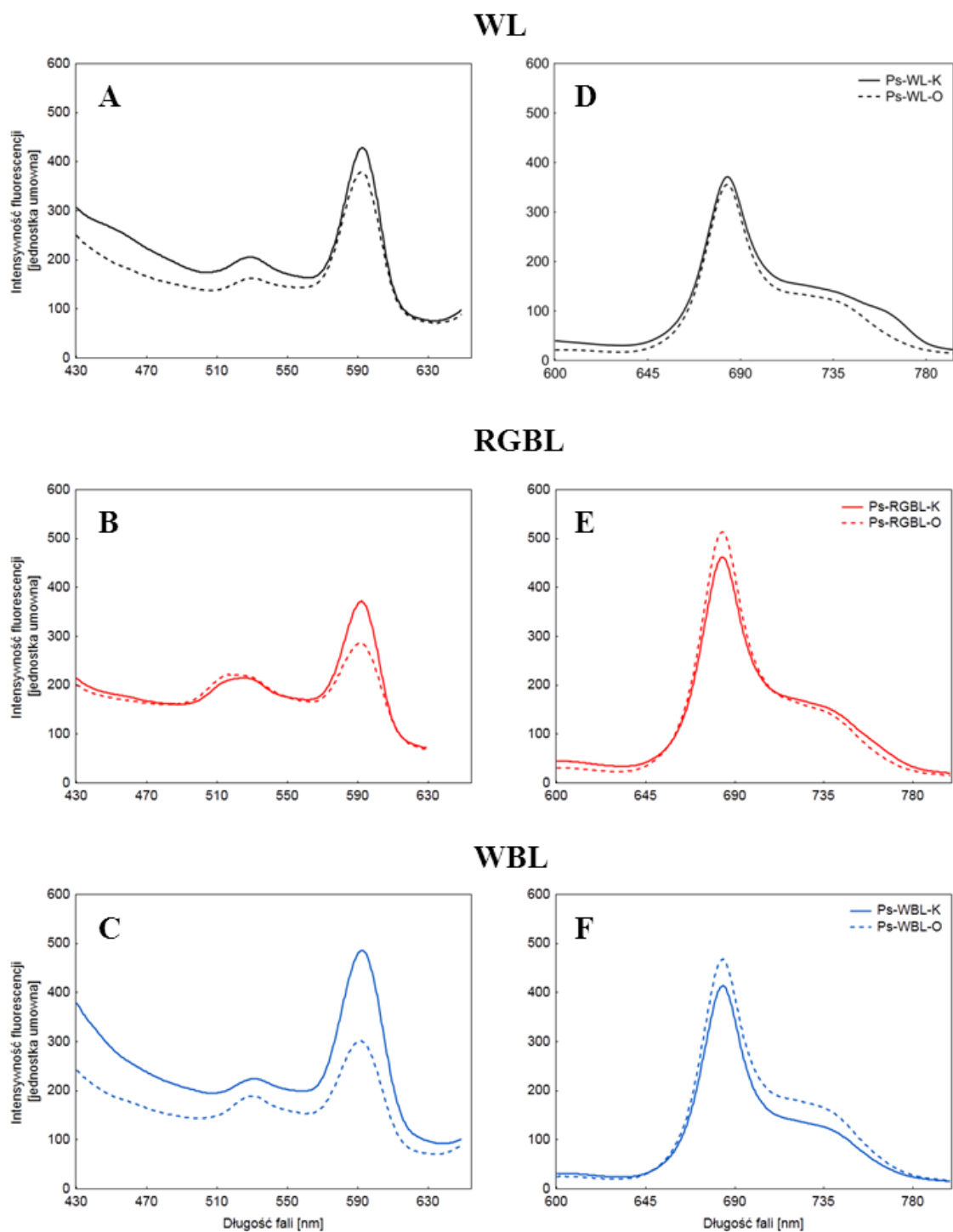
U *P. cuspidatum* (niezależnie od składu spektralnego światła) ozon powodował niewielki, ale istotny wzrost intensywności fluorescencji przy 690 nm w porównaniu z nefumigowaną kontrolą (Ryc. 15 D – F). Jednak rośliny *P. formosum* reagowały na stres ozonowy obniżeniem intensywności fluorescencji w zakresie czerwonym (Ryc. 16 D – F). Obniżenie to było szczególnie widoczne u *P. formosum* rosnącego na RGBL (Ryc. 16E). Reakcja *P. schreberi* na stres ozonowy przypominała z kolei tą obserwowaną u *P. cuspidatum* (Ryc. 15 i 17 E – F). Jednakże w przypadku *P. schreberi* na WL następowało obniżenie intensywności fluorescencji pod wpływem ozonu, zwłaszcza w zakresie dalekiej czerwieni powyżej 700 nm (Ryc. 17D). Ponadto wzrost intensywności fluorescencji czerwonej na WBL był silniej zaznaczony niż u *P. cuspidatum*, zwłaszcza w dalekiej czerwieni (Ryc. 15 i 17F).



Ryc. 15. Widma fluorescencji niebiesko-zielonej (A – C) oraz czerwonej (D – F) liści *Plagiomnium cuspidatum* rosnących w warunkach stresu ozonowego (linia przerywana) i w warunkach kontrolnych (linia ciągła), w składach spektralnych światła (WL, RGLB, WBL).



Ryc. 16. Widma fluorescencji niebiesko-zielonej (A – C) oraz czerwonej (D – F) liści *Polytrichastrum formosum* rosnących w warunkach stresu ozonowego (linia przerywana) i w warunkach kontrolnych (linia ciągła), w składach spektralnych światła (WL, RGBL, WBL).



Ryc. 17. Widma fluorescencji niebiesko-zielonej (A – C) oraz czerwonej (D – F) liści *Pleurozium schreberi* rosnących w warunkach stresu ozonowego (linia przerywana) i w warunkach kontrolnych (linia ciągła), w składach spektralnych światła (WL, RGLB, WBL).

4.8.2. Współczynniki fluorescencji według Schweigera i in. [1996]

Na podstawie widm fluorescencji obliczono współczynniki obrazujące wpływ warunków wzrostu na stosunki intensywności fluorescencji liści mchów przy wybranych długościach fali (Tab. 5). Współczynniki obliczono za Schweiger i in. [1996]. Na czerwono zaznaczono wartości współczynnika F595/F530 zaproponowanego przez autorkę.

F440/F530

Wpływ składu spektralnego światła

U *P. cuspidatum* oraz *P. formosum* wartość współczynnika F440/F530 była istotnie wyższa podczas wzrostu na WBL w porównaniu do WL oraz RGBL. U *P. schreberi* skład spektralny światła nie miał wpływu na wartość omawianego współczynnika (Tab. 5).

Wpływ stresu ozonowego

W warunkach stresu ozonowego u *P. cuspidatum*, wartość współczynnika F440/F530 nie ulegała istotnym zmianom w porównaniu do kontroli. U *P. formosum* ozon powodował wzrost wartości omawianego współczynnika na WL i RGBL oraz jego spadek na WBL. Wzrost wartości F440/F530 pod wpływem ozonu obserwowano także u *P. schreberi* na WL (Tab. 5).

F440/F690

Wpływ składu spektralnego światła

U *P. cuspidatum* wartość stosunku F440/F690 silnie zależała od składu spektralnego światła i była najwyższa na WBL. Maksymalną wartość omawianego stosunku na WBL obserwowano także u *P. schreberi*. U *P. formosum*, podczas wzrostu na RGBL, obserwowano natomiast spadek wartości F440/F690 w porównaniu z WL (Tab. 5).

Wpływ stresu ozonowego

Zmiana, obserwowanej u kontroli, wartości F440/F690 pod wpływem ozonu zależała od składu spektralnego światła. Jednakże kierunek tych zmian był różny u poszczególnych gatunków mchów. I tak, u *P. cuspidatum* i *P. formosum* rosnących na WL ozon nie wpływał na wartość F440/F690. Jednakże w tych samych warunkach świetlnych powodował wzrost wartości omawianego stosunku u *P. schreberi*. Na RGBL

ozon powodował wzrost wartości F440/F690 u *P. cuspidatum* i *P. formosum*. W przypadku WBL, fumigacja ozonem prowadziła do spadku wartości F440/F690 u *P. cuspidatum* oraz *P. schreberi*. W pozostałych przypadkach zmiany wartości stosunku F440/F690 pod wpływem ozonu były statystycznie nieistotne (Tab. 5).

F440/F735

Wpływ składu spektralnego światła

U roślin *P. cuspidatum* wartość F440/F735 nie zależała od składu spektralnego światła. Jednakże u *P. formosum* odnotowano spadek wartości omawianego stosunku na RGLB, a u *P. schreberi* istotny wzrost jego wartości na WBL (Tab. 5).

Wpływ stresu ozonowego

U roślin *P. cuspidatum* oraz *P. formosum* wartość F440/F735 istotnie wzrastała pod wpływem ozonu jedynie na RGLB. Natomiast u *P. schreberi* ozon powodował wzrost wartości F440/F735 na WL oraz jej obniżenie na WBL (Tab. 5).

F690/F735

Wpływ składu spektralnego światła

U *P. cuspidatum* wartość F690/F735 była istotnie niższa na WBL w porównaniu do WL i RGLB. Natomiast u *P. formosum* najniższą wartość omawianego stosunku obserwowano na RGLB. W przypadku *P. schreberi* najwyższą wartość F690/F735 obserwowano na WBL, a najniższą na WL (Tab. 5).

Wpływ stresu ozonowego

Ozon powodował spadek wartości F690/F735 na WL u *P. cuspidatum* oraz nie miał wpływu na wartość tego współczynnika u pozostałych gatunków mchów. Na RGLB ozon obniżał wartość współczynnika F690/F735 u *P. cuspidatum*, natomiast zwiększał jego wartość u *P. formosum* oraz *P. schreberi*. Na WBL następował wzrost wartości F690/F735 u *P. cuspidatum*, podczas gdy u pozostałych gatunków obserwowano spadek wartości F690/F735 w omawianych warunkach świetlnych (Tab. 5).

Tab. 5. Wpływ składu spektralnego światła (WL, RGLB oraz WBL) oraz stresu ozonowego na wartość wybranych współczynników emisji fluorescencji liści *P. cuspidatum* – *Plagiomnium cuspidatum*, *P. formosum* – *Polytrichastrum formosum* oraz *P. schreberi* – *Pleurozium scheberi*. Kolorem czerwonym zaznaczono współczynnik F595/F530 zaproponowany przez autorkę. Pozostałe współczynniki obliczono za Schweigerem i in. [1996]. Wartości oznaczone różnymi literami (w obrębie jednego wiersza) różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Stosunek	Skład spektralny światła					
	WL		RGLB		WBL	
	Kontrola	Ozon	Kontrola	Ozon	Kontrola	Ozon
Wartość stosunku intensywności fluorescencji						
<i>P. cuspidatum</i>						
F440/F530	0,76 ^c	0,76 ^c	0,81 ^c	0,91 ^{bc}	1,09 ^{ab}	1,13 ^a
F440/F690	0,23 ^b	0,26 ^b	0,17 ^c	0,37 ^a	0,36 ^a	0,29 ^b
F440/F735	0,75 ^{cd}	0,79 ^{bc}	0,57 ^c	1,15 ^a	0,90 ^{bc}	0,98 ^{ab}
F690/F735	3,23 ^{ab}	3,02 ^c	3,36 ^a	3,09 ^c	2,53 ^d	3,36 ^a
F595/F530	2,18 ^b	1,47 ^c	1,29 ^c	2,70 ^a	1,60 ^c	1,57 ^c
<i>P. formosum</i>						
F440/F530	1,04 ^b	1,22 ^a	1,00 ^b	1,32 ^a	1,31 ^a	0,95 ^b
F440/F690	0,62 ^{ab}	0,67 ^{ab}	0,37 ^c	0,79 ^a	0,57 ^{bc}	0,53 ^{bc}
F440/F735	1,35 ^{ab}	1,51 ^{ab}	0,86 ^c	1,81 ^a	1,45 ^{ab}	1,24 ^b
F690/F735	2,23 ^{ab}	2,25 ^{ab}	2,20 ^c	2,27 ^{ab}	2,55 ^a	2,33 ^b
F595/F530	1,78 ^{bc}	2,64 ^a	1,46 ^c	2,62 ^a	2,18 ^{ab}	2,31 ^a
<i>P. schreberi</i>						
F440/F530	1,01 ^{bc}	1,38 ^a	1,02 ^{bc}	0,84 ^c	1,27 ^{ab}	1,18 ^{ab}
F440/F690	0,52 ^b	0,78 ^a	0,50 ^b	0,41 ^b	0,85 ^a	0,52 ^b
F440/F735	1,23 ^c	1,99 ^b	1,38 ^c	1,24 ^c	2,61 ^a	1,28 ^c
F690/F735	2,40 ^c	2,50 ^c	2,77 ^b	2,99 ^a	3,04 ^a	2,42 ^c
F595/F530	2,47 ^a	2,24 ^a	1,86 ^b	1,30 ^d	1,71 ^{bc}	1,54 ^{cd}

F595/F530

Wpływ składu spektralnego światła

W przypadku zaproponowanego współczynnika F595/F530 opisującego zmiany intensywności fluorescencji w zakresie zielonym, obserwowano spadek jego wartości na RGLB oraz WBL w porównaniu do WL, zarówno u *P. cuspidatum* jak i *P. schreberi*.

Rośliny *P. formosum* na WL charakteryzowały się natomiast zbliżoną wartością F595/F530 do tej obserwowanej u roślin na RGLB i WBL. Jednakże na WBL wartość tego współczynnika była wyższa w porównaniu do RGLB (Tab. 5).

Wpływ stresu ozonowego

U wszystkich gatunków mchów rosnących na WBL, w warunkach stresu ozonowego, wartości współczynnika F595/F530 były podobne jak u nefumigowanej kontroli. W pozostałych składach spektralnych światła wartość F595/F530, w warunkach stresu ozonowego, była zależna od gatunku mchu. I tak, u *P. cuspidatum* obserwowano spadek wartości F595/F530 na WL oraz wzrost na RGLB. W przypadku *P. formosum* stres ozonowy prowadził do wzrostu wartości F595/F530 zarówno na WL jak i RGLB. Natomiast u *P. schreberi* zmianę wartości F595/F530 w warunkach stresu ozonowego obserwowano jedynie na RGLB (Tab. 5).

4.8.3. Intensywność fluorescencji PSII i PSI według Jena i in. [2012]

Wpływ barwy światła

U wszystkich gatunków mchów rosnących na RGLB parametr PSII-A był, w porównaniu do WL, istotnie wyższy. Jedynie u *P. cuspidatum* wyższą wartość PSII-A, w stosunku do tej na WL, obserwowano także na WBL (Tab. 6).

W przypadku PSII-C, u roślin *P. cuspidatum* i *P. schreberi* rosnących na RGLB zaobserwowano istotnie wyższe wartości tego parametru niż u roślin na WL. Podobnie jak w przypadku PSII-A, u *P. cuspidatum* wartość PSII-C była również istotnie wyższa na WBL. U *P. formosum* nie obserwowano różnic w wartościach omawianego parametru w stosunku do WL. U *P. formosum* oraz *P. schreberi* wykazano ponadto, że na WBL wartości PSII-C były niższe w stosunku do obserwowanych na RGLB (Tab. 6).

W przeciwieństwie do PSII-A, wartości parametru PSI-A na RGLB były u wszystkich gatunków zbliżone do tych na WL. Zaobserwowano jednak różnice w wartościach tego parametru pomiędzy WL a WBL. Różnice te były uwarunkowane gatunkowo. I tak, u *P. cuspidatum* PSI-A było wyższe, u *P. formosum* niższe, a u *P. schreberi* zbliżone do tego na WBL. Wystąpiły też różnice pomiędzy wartościami PSI-A u roślin rosnących na RGLB i WBL. W przypadku *P. cuspidatum* wartość omawianego parametru była niższa, a u *P. formosum* i u *P. schreberi* była wyższa na RGLB (Tab. 6).

W stosunku do WL, PSI-C był wyższy na RGBL u *P. cuspidatum* i *P. formosum*. Natomiast u *P. schreberi* nie wykazano statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami na WL i RGBL. Z kolei na WBL wartości tego parametru były wyższe u *P. cuspidatum*, a niższe u *P. formosum*. W przypadku *P. schreberi* wykazano natomiast statystycznie istotne różnice w wartościach PSI-C tylko u roślin rosnących na RGBL i WBL (Tab. 6).

Wpływ stresu ozonowego

W porównaniu do kontroli, w warunkach stresu ozonowego, wartości PSII-A na WL wzrastały jedynie u *P. cuspidatum*, podczas gdy u pozostałych gatunków nie ulegały istotnym zmianom. Z kolei na RGBL, ozon wywoływał obniżenie tychże wartości tylko u *P. formosum*. Z kolei u roślin rosnących na WBL, ozon powodował wzrost wartości PSII-A u *P. cuspidatum* i jej obniżenie u *P. formosum*. U *P. schreberi* w warunkach stresu ozonowego i niezależnie od składu spektralnego światła, nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian w wartościach parametru PSII-A w porównaniu z kontrolą (Tab. 6).

Na WL nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian parametru PSII-C u żadnego z badanych gatunków, zarówno u kontroli jak i w warunkach stresu ozonowego. Jedynie na RGBL, ozon powodował obniżenie wartości PSII-C u *P. formosum*. Na WBL, zarówno u *P. cuspidatum* jak i *P. schreberi*, obserwowano wzrost wartości badanego parametru względem kontroli w warunkach stresu ozonowego i jego obniżenie u *P. formosum* (Tab. 6).

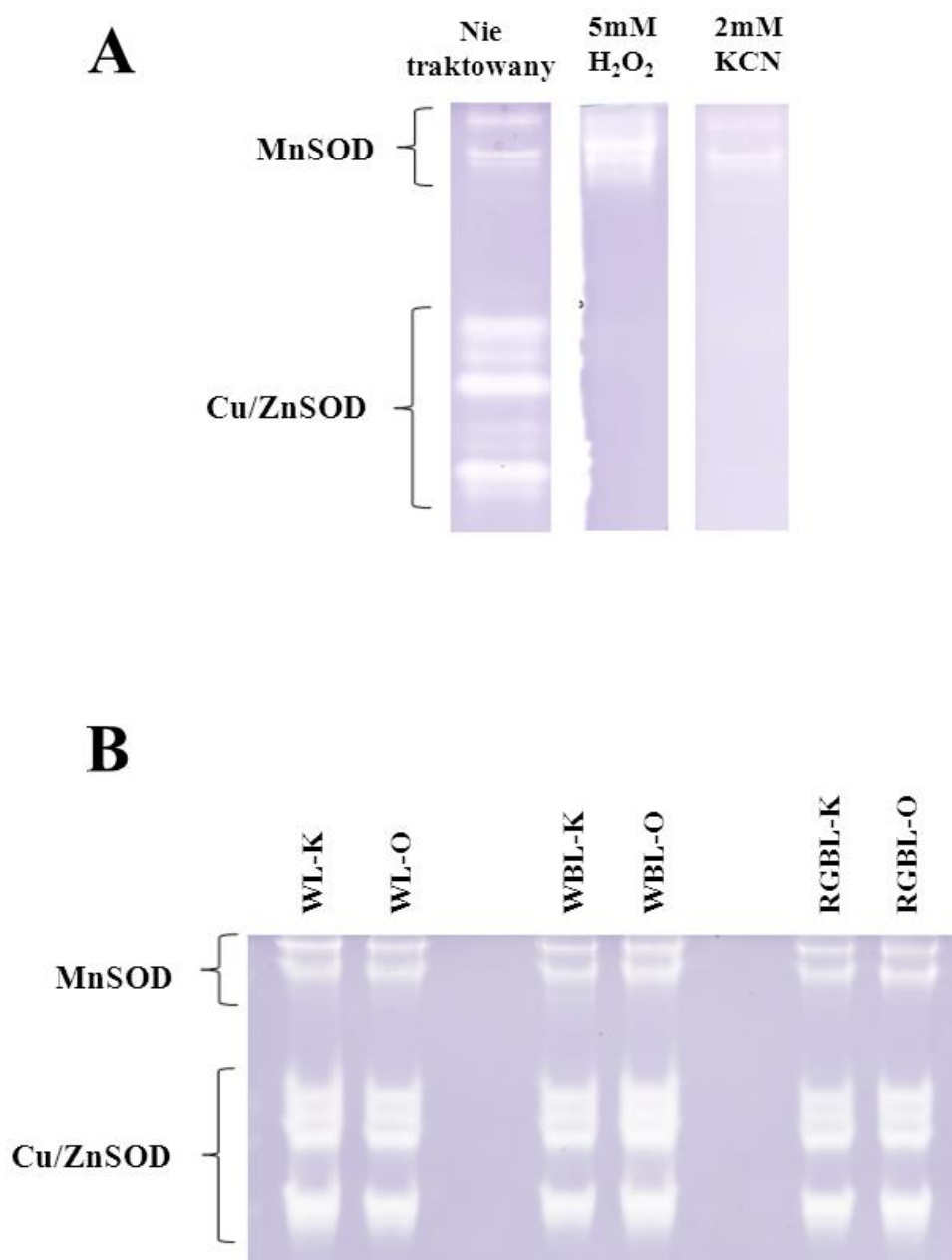
Wartości PSI-A w warunkach stresu ozonowego ulegały zmianom, w porównaniu do kontroli, jedynie na RGBL i WBL. U *P. cuspidatum* ozon powodował wzrost wartości PSI-A na RGBL i jej spadek na WBL. W przypadku *P. formosum* spadek wartości PSI-A obserwowano wyłącznie na RGBL. Jedynie u *P. schreberi* na WBL wykazano wzrost wartości parametru PSI-A (Tab. 6).

Tab. 6. Intensywność fluorescencji fotosystemu II (PSII) i fotosystemu I (PSI) w liściach mchów *P. cuspidatum* – *Plagiomnium cuspidatum*, *P. formosum* – *Polytrichastrum formosum* oraz *P. schreberi* – *Pleurozium scheberi* fumigowanych ozonem w różnych składach spektralnych światła. Intensywność pików fluorescencji anten (A) oraz kory (C) użyto do obliczenia współczynników antena/kora (A/C). Wartość PSI/PSII wyraża stosunek intensywności fluorescencji anten. Współczynniki obliczono za Jena i in. [2012]. Wartości oznaczone różnymi literami (dla danego gatunku mchu) w obrębie tej samej kolumny różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$ według testu Duncana; $n = 10$.

Obiekt	Wartości intensywności fluorescencji i ich stosunki						
	PSII-A	PSII-C	PSII-A/C	PSI-A	PSI-C	PSI-A/C	PSI/PSII
<i>P. cuspidatum</i>							
WL-K	416,95 ^d	262,25 ^c	1,59 ^c	128,77 ^c	120,33 ^c	1,07 ^b	0,67 ^a
RGBL-K	551,69 ^{ab}	336,63 ^{ab}	1,64 ^b	163,66 ^c	153,47 ^b	1,07 ^{bc}	0,65 ^b
WBL-K	520,40 ^{bc}	324,80 ^b	1,60 ^{bc}	176,53 ^a	166,30 ^a	1,06 ^c	0,66 ^{ab}
WL-O	493,09 ^c	288,24 ^c	1,71 ^a	135,49 ^c	125,75 ^c	1,09 ^a	0,63 ^c
RGBL-O	557,18 ^{ab}	340,55 ^{ab}	1,64 ^b	158,65 ^b	147,20 ^b	1,08 ^a	0,66 ^{ab}
WBL-O	587,45 ^a	361,18 ^a	1,62 ^{bc}	164,28 ^b	153,53 ^b	1,07 ^b	0,66 ^{ab}
<i>P. formosum</i>							
WL-K	456,56 ^b	285,57 ^{ab}	1,60 ^d	172,35 ^{ab}	165,59 ^b	1,04 ^a	0,65 ^a
RGBL-K	516,22 ^a	310,12 ^a	1,67 ^{ab}	188,91 ^a	183,88 ^a	1,02 ^c	0,61 ^c
WBL-K	468,93 ^b	277,77 ^b	1,69 ^a	152,98 ^{cd}	146,49 ^{cd}	1,04 ^a	0,61 ^c
WL-O	448,06 ^{bc}	273,34 ^{bc}	1,64 ^c	165,27 ^{bc}	159,95 ^{bc}	1,03 ^b	0,63 ^{bc}
RGBL-O	401,73 ^c	241,32 ^d	1,66 ^b	145,99 ^d	141,35 ^d	1,03 ^b	0,62 ^{cd}
WBL-O	404,89 ^c	246,82 ^{cd}	1,64 ^c	144,92 ^d	139,18 ^d	1,04 ^a	0,63 ^b
<i>P. schreberi</i>							
WL-K	369,6 ^{cd}	247,66 ^b	1,50 ^b	149,52 ^{bcd}	140,49 ^{bc}	1,07 ^b	0,73 ^a
RGBL-K	460,57 ^{ab}	304,94 ^a	1,50 ^b	168,05 ^{ab}	156,96 ^{ab}	1,07 ^b	0,73 ^a
WBL-K	413,08 ^{bc}	265,19 ^b	1,60 ^a	136,10 ^{cd}	126,72 ^c	1,08 ^{ab}	0,68 ^a
WL-O	353,37 ^d	226,12 ^b	1,58 ^{ab}	130,60 ^d	122,61 ^c	1,07 ^b	0,67 ^a
RGBL-O	512,38 ^a	328,92 ^a	1,56 ^{ab}	160,45 ^{abc}	147,77 ^{abc}	1,09 ^a	0,70 ^a
WBL-O	466,72 ^{ab}	308,53 ^a	1,51 ^{ab}	176,93 ^a	165,90 ^a	1,07 ^b	0,71 ^a

Jednocześnie, w warunkach stresu ozonowego zaobserwowano obniżenie wartości PSI-C u roślin *P. cuspidatum* rosnących na WBL oraz u *P. formosum* na RGBL. Wzrost wartości badanego parametru stwierdzono zaś u *P. scheberi* na WBL. W pozostałych przypadkach nie wykazano istotnych statystycznie zmian u żadnego z badanych gatunków mchów (Tab. 6).

4.9. Oznaczanie izoform SOD i ich aktywności u *Plagiomnium cuspidatum*

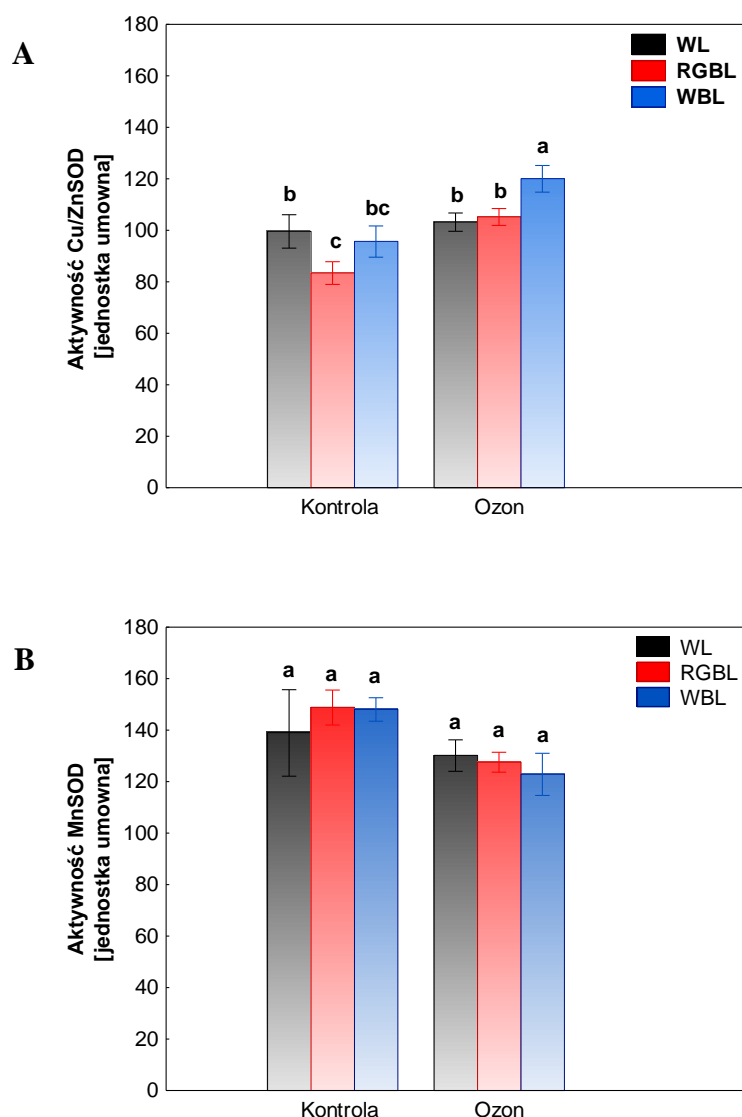


Ryc. 18. Identyfikacja izoform SOD na żelach natywnych (A) oraz obrazy elektroforetyczne izoform SOD w gametoforach *Plagiomnium cuspidatum* poddanych działaniu stresu ozonowego przy różnym składzie spektralnym światła (B).

W ekstraktach białkowych z *P. cuspidatum* zidentyfikowano dwie izoformy SOD: Cu/ZnSOD i MnSOD (Ryc. 18). Analiza aktywności Cu/ZnSOD w gametoforach rosnących w zróżnicowanym składzie spektralnym światła wykazała jedynie istotny wpływ składowej czerwonej. I tak, na RGBL obserwowano obniżenie aktywności

tej izoformy tylko względem gametoforów rosnących na WL. W przypadku izoformy MnSOD nie wykazano wpływu światła na jej aktywność.

Analiza aktywności Cu/ZnSOD w gametoforach fumigowanych ozonem przy różnym składzie spektralnym światła pokazuje, że ozon powoduje wzrost aktywności omawianej izoformy SOD w warunkach RGLB i WBL (Ryc. 19A). W przypadku MnSOD aktywność tej izoformy nie była zależna ani od warunków świetlnych, ani od fumigacji ozonem (Ryc. 19B).



Ryc. 19. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGLB oraz WBL) na zmiany aktywności Cu/ZnSOD (A) oraz MnSOD (B) w gametoforach *Plagiomnium cuspidatum*. Wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

5. DYSKUSJA

Doniesienia na temat aktywności fotosyntetycznej roślin w poszczególnych warstwach lasu są powszechnie dostępne w literaturze [Endler, 1993; Théry, 2001]. Jednakże odpowiedzi roślin na czynniki środowiska w poszczególnych piętrach lasu nie są jeszcze w pełni poznane. Dotyczy to w szczególności relacji pomiędzy ozonem, a właściwościami biochemicznymi i strukturą liści roślin na które on działa. Z przeprowadzonych dotychczas badań wynika, że największy stopień uszkodzenia w odpowiedzi na stres ozonowy wykazują liście roślin zlokalizowane w połowie baldachimu lasu. Przyczyną tego jest prawdopodobnie cienka struktura liści oraz ich wysokie przewodnictwo szparkowe będące wynikiem odpowiedzi roślin na niskie natężenie docierającego do nich światła. W efekcie zmniejsza to drogę dyfuzji ozonu do miejsc wrażliwych na ten gaz. U roślin w wyższych piętrach lasu, grubsze struktury komórkowe liści są chronione przed uszkodzeniami dzięki większej liczbie warstw miękiszu palisadowego [Broadmeadow, 1998]. Należy też podkreślić, że u mszaków budowa ich baldachimu decyduje o bilansie węgla [Titus i Wagner, 1984], interakcji pomiędzy poszczególnymi osobnikami [Van der Hoeven i During, 1997], dostępie do światła [Van der Hoeven i in., 1993] i wody [Rice i Schuepp, 1995; Proctor, 2000a i b; Proctor i Smirnoff, 2000], a w konsekwencji określa produktywność fotosyntetyczną roślin [Haywood i Clymo, 1983].

Reasumując, żyjące najczęściej w ściółce leśnej mszaki rosną w warunkach zmiennego stosunku promieniowania $R : FR$ (najczęściej przy niskiej jego wartości) choć także w warunkach pełnego oświetlenia na tzw. „sun flakes”, inaczej w tzw. plamach świetlnych. Omawiane obszary (plamy) światła pojawiają się bowiem systematycznie w tym samym miejscu w ciągu dnia, jeśli ekosystem leśny ma ukształtowaną strukturę. Takie zmiany wpływają zarówno na natężenie jak i skład spektralny światła.

W dotychczas prowadzonych badaniach najczęściej opisywane są reakcje roślin *Arabidopsis thaliana* na czynniki środowiska. Stosunkowo niewiele wiadomo natomiast o reakcji na stres u drzew i traw, a zwłaszcza u paproci oraz mchów. Dlatego też, uogólnienie aktualnej wiedzy behawioralnej dla wszystkich gatunków jest prawie niemożliwe lub co najmniej bardzo ryzykowne. Jedynie dalsze badania mogą przynieść nowe odkrycia związków regulujących funkcjonowanie organizmów w zmiennych warunkach środowiska [Aphalo, 2006]. Dotychczas prowadzone badania pokazują, że podwyższone stężenie ozonu przyczynia się do uszkodzeń roślin w lasach

oraz na obszarach użytków zielonych tj. w agrocenozach. Jednak efekty działania ozonu na całe ekosystemy nie zostaną prawdopodobnie szybko opisane kompleksowo, ponieważ niektóre gatunki roślin wykazują ekstremalną tolerancję na zanieczyszczenia atmosfery [Clymo, 1998]. Fizjologiczna odpowiedź tych samych roślin na stres ozonowy nie jest jednakowa w skali świata. Stężenie ozonu jest bowiem różne w różnych miejscach na Ziemi. Prognozuje się, że w kolejnych dekadach nastąpi spadek stężenia ozonu w Europie i USA, a wzrost w Azji Południowej i Wschodniej [Ainsworth i in., 2012]. Te globalne zmiany w koncentracji ozonu troposferycznego podkreślają potrzebę prowadzenia dalszych badań, które pozwolą zobrazować przestrzenną i czasową zmienność występowania tego gazu w poszczególnych regionach świata. Badania te mogą mieć wpływ na utrzymanie różnorodności biologicznej oraz struktury i funkcjonowania ekosystemów. Tak więc, ciągle istnieje zapotrzebowanie na systematyczne badania stresu ozonowego w celu oceny względnej wrażliwości gatunkowej i określenia krytycznych poziomów tolerancji na ozon na potrzeby ochrony najbardziej wrażliwych gatunków [Konwencja Biologicznej Bioróżnorodności, 2014].

Dotychczasowe badania sugerują, że ozon i światło działając razem (w miejscach zacienionych i o wysokim natężeniu światła) wywołują silne interakcje w procesach życiowych roślin [Heath, 1994; Farage, 1996; Fredericksen i in., 1996; Bäck i in., 1999; Farage i Long, 1999; Topa i in., 2001]. Działanie czynników stresowych jest ze sobą powiązane. Według Zhanga i in. [2009] oraz Niinemetsa i in. [2010] ważne jest, który ze stresów działa jako pierwszy, a który jako ostatni. Rośliny nabywając odporność na jeden rodzaj stresu często wykazują zwiększoną odporność na inne czynniki środowiska poprzez kształtowanie wspólnych mechanizmów obronnych [Kopcewicz, 2012]. Reakcje roślin zależą od panujących warunków otoczenia, jakości i intensywności działania bodźca, stadium rozwoju i innych czynników środowiskowych wpływających na ich funkcjonowanie [Black i in., 2000; Momen i in., 2001; Bussotti i in., 2005; Aphalo, 2006; Picchi i in., 2010]. Według Daviesa i in. [1986], rośliny reagują szybko poprzez kształtowanie różnych i skutecznych przystosowań morfologicznych i fizjologicznych chroniących je przed działaniem niekorzystnych czynników środowiska.

Mszaki bardzo silnie reagują na zmiany zachodzące w środowisku. Rośliny te, przez swoją prostą budowę morfologiczną i niewielkie rozmiary, są podatne na krótkotrwałe działanie różnych czynników stresowych. Liczne badania naukowe, prowadzone w ostatnich latach na mszakach, mają związek z ich ogromnym znaczeniem ekologicznym [Potter i in., 1996; Bates, 2000; Christianson, 2000; Proctor i Smirnov,

2000; Van der Wal i in., 2005]. W celu lepszego zrozumienia wpływu czynników środowiska na mchy konieczne są bardziej szczegółowe badania w tym zakresie.

5.1. Rola składu spektralnego światła w warunkach stresu ozonowego w procesie wzrostu i rozwoju mchów

Światło jest czynnikiem istotnym dla wzrostu i rozwoju roślin, które reagują na nie w różny sposób, zależny od jego natężenia i barwy [Zhang i Folta, 2012]. Dzięki fotoreceptorom, które są aktywowane przy określonych długościach fali [Hogewoning i in., 2010; Liu, 2012] rośliny odbierają informację o jakościowych i ilościowych zmianach widma światła słonecznego i dostosowują do nich swój wzrost i rozwój [Hetmann i Kowalczyk, 2011]. Światło niebieskie oddziałuje w dużym stopniu na rozwój roślin niższych, a w znacznie mniejszym na rośliny wyższe, u których procesy fotomorfogenetyczne są regulowane głównie przez fitochrom. W łąnie oraz w niższych piętrach lasu, sygnał świetlny docierający do roślin wykazuje niski stosunek R : FR, co obniża poziom aktywnych form fitochromów i prowadzi w ten sposób do tzw. syndromu unikania cienia [Casal, 2000]. W odpowiedzi na zmiany składu spektralnego światła, a szczególnie na niską wartość stosunku R : FR w wyniku zacielenia, rośliny wykazują szybki wzrost wydłużeniowy i pionowe ustawienie pędów, zmiany w kształcie i ułożeniu blaszek liściowych ku górze, zwiększoną dominację wierzchołkową oraz zmiany w składzie chemicznym barwników i innych metabolitów. Interakcje sygnałów świetlnych odbierane przez różne fotoreceptory występują także na poziomie komórkowym i molekularnym. I tak, na przykład w świetle niebieskim następuje aktywacja kanałów anionowych i kationowych, które wpływają na kurczenie się protoplastu komórek *Arabidopsis* [Wang i Lino, 1998; Cashmore i in., 1999; Guo i in., 1999]. Percepcja światła czerwonego i dalekiej czerwieni odbywa się poprzez receptory fitochromowe zarówno u bakterii, cyjanobakterii, grzybów i roślin [Rösler i in., 2010]. Jednakże odpowiedź na aktywację fitochromu jest inna u roślin wyższych niż u mchów i paproci. I tak, u mchów fitochrom pośredniczy wyłącznie w ruchach kierunkowych tj. fototropiźmie i polarotropiźmie (tj. w reakcjach pośredniczonych u roślin wyższych przez fototropinę – receptor światła niebieskiego). Przyjmuje się, że u mchów aktywne fizjologicznie formy fitochromu występują w cytoplazmie lub na błonie plazmatycznej [Rösler i in., 2010]. Taką lokalizację występowania fitochromu w protoplastach mchów potwierdzają m.in. badania Uenaki i Kadoty [2007] wykonane na mchu *Physcomitrella* sp. Jakkolwiek warunki świetlne są kluczowe dla ekspresji fitochromu, jego stabilności

lub degradacji zarówno u roślin niższych jak i wyższych [Mittmann i in., 2004], to wydaje się, że światło nie wpływa na lokalizację aktywnego fitochromu w komórkach roślin niższych [Rösler i in., 2010]. Innymi słowy przyjmuje się, że translokacja do jądra fitochromu aktywowanego światłem czerwonym jest charakterystyczna wyłącznie dla roślin wyższych. Pomimo braku dowodów na występowanie fitochromu w jądrze komórek mchów Uenaka i in. [2005] sugerują taką możliwość. W badaniach nad rolą światła w rozwoju gametofitów mchów wykazali oni obecność receptora światła czerwonego w obrębie jądra. Pomimo, że odpowiedź na światło czerwone nie była odwracana poprzez daleką czerwień Uenaka i in. [2005] sugerują, że receptorem światła czerwonego może być jednak fitochrom. W przypadku mchu *Physcomitrella patens* wykazano zintegrowane współdziałanie fotoreceptorów zaangażowanych w tworzenie bocznych rozgałęzień splotka i gametoforu. Podobnie u *Arabidopsis* wykazano interakcje fitochromu i kryptochromu [Ahmad i in., 1998; Mas i in., 2000]. Imaizumi i in. [2002] z kolei wykazali, że zakłócenia w działaniu kryptochromów powodują zmiany w metabolizmie auksyn *P. patens* [Sun i in., 2006]. Gametofity mchów rozwijają się z zarodników, które kiełkują w rozgałęzione, wielokomórkowe splotki [Cove i in., 1997; Reski, 1997; Schaefer i Zryd, 2001]. O ile u *Ceratodon purpureus* indukcja i kierunek wzrostu rozgałęzień regulowana jest przez światło czerwone [Kagawa i in., 1997], to w przypadku *P. patens* przez światło czerwone [Ermolayeva i in., 1996] i niebieskie [Imaizumi i in., 2002]. Także Uenaka i in. [2005] wykazali wpływ barwy światła na rozwój rozgałęzień splotków *P. patens*. I tak, światło niebieskie w większym stopniu stymulowało ich wzrost w porównaniu do światła czerwonego, a promieniowanie UV i daleka czerwień nie wpływały na ten proces. Ponadto wspomniani autorzy pokazali też, że chociaż samo światło czerwone ma niewielki wpływ na tworzenie się splotka, to wraz ze światłem niebieskim silnie indukuje jego rozwój. Wskazuje to na synergizm światła czerwonego i niebieskiego w tworzeniu protonemy mchu. Ważnym elementem poznawczym pracy Uenaki i in. [2005] jest wykazanie, że u *P. patens* występują przynajmniej cztery receptory światła posiadające różną lokalizację wewnątrzkomórkową. Kryptochrom i receptor światła czerwonego zlokalizowane są w obrębie jądra komórkowego, podczas gdy fototropina i fitochrom na błonie komórkowej.

Z badań własnych wynika, że skład spektralny światła wpływa odmiennie na wzrost chwytників, gametoforów i gametofitów mchów. I tak, można wnioskować, że za zahamowanie wzrostu chwytників odpowiada składowa niebieska. Jako że światło zielone jest mało efektywne z punktu widzenia fotomorfo-genetycznego, można

przypuszczać, że za stymulację wzrostu chwytników odpowiada składowa czerwona (Tab. 1). W przypadku gametoforów największy ich przyrost obserwowano u mchów rosnących na WL. Reakcja ta może wskazywać, że nadmiar światła niebieskiego i czerwonego hamuje wzrost tego organu (Tab. 1). Istotny wpływ na wzrost gametofitów wywierało spektrum RGBL w stosunku do dwóch pozostałych składów spektralnych światła. Taka reakcja może świadczyć o znaczącej roli światła czerwonego we wzroście tych organów mchów (Tab. 1).

Zróznicowane reakcje badanych mchów na skład spektralny światła trudno odnieść wprost do danych literaturowych. Większość prowadzonych dotychczas badań dotyczy bowiem wpływu promieniowania UV na wzrost mchów. I tak, z doświadczeń Sonessona i in. [1996] oraz Gehrke [1999] wynika, że promieniowanie UV hamuje wzrost oraz przyrost suchej masy *Hylocomium splendens*. Także Rozema i in. [2002] pokazują, że promieniowanie UV spowalnia wzrost mchu *Tortura ruralis*. Obserwacjom tym zaprzeczają jednak prace Johanssona i in. [1995], którzy wykazali stymulujący wpływ promieni UV na wzrost *H. splendens*. U *Polytrichum* sp. roczny przyrost na długość nie zmieniał się w warunkach podwyższonej radiacji promieniowania UV [Gehrke, 1999], podczas gdy reakcja subarktycznego mchu *Sphagnum fuscum* na ten czynnik była niejednoznaczna [Gehrke, 1998].

U mchów *P. cuspidatum*, *P. formosum* i *P. schreberi* ozon generalnie spowalniał wzrost chwytników. W większości przypadków trudno jednak doszukać się korelacji pomiędzy działaniem tego gazu, a zróżnicowanym składem spektralnym światła (Tab. 1). Jednakże u roślin wyższych, światło o różnej jakości i natężeniu wywołuje zmiany w funkcjonowaniu korzeni. Wpływ na wzrost korzeni może być pośredni (wpływ na alokację metabolitów oraz pobieranie substancji mineralnych) lub bezpośredni (indukcja i modulowanie procesów enzymatycznych oraz ekspresji genów) [Lin, 2000; Aphalo, 2006]. Brak takich relacji u mchów nie dziwi, ze względu na różną funkcję jaką pełnią chwytniki i korzenie. Badania własne wskazują, że ozon niezależnie od składu spektralnego światła hamuje także wzrost gametoforów i gametofitów mchów (Tab. 1). Na tym etapie badań można stwierdzić, że gaz ten wywołuje zakłócenia podstawowych procesów metabolicznych w komórkach. W skrajnych przypadkach ozon powoduje uszkodzenia organelli komórkowych, a w efekcie spowalnia wzrost i rozwój roślin. Według Petersona i in. [1999], ozon w niskich stężeniach (50, 100 ppb) wpływa stymulująco na wzrost i rozwój protonemy oraz gametofitów *Polytrichum commune*. Odbywa się poprzez regulację gospodarki hormonalnej. Niemi i in. [2002] natomiast, nie

wykazali takich zmian dla *Sphagnum*, co tłumaczą zbyt krótką ekspozycją mchów na działanie ozonu, ale i wysoką tolerancją tego gatunku na zmieniające się warunki środowiska.

Obserwacje związane z wpływem ozonu na przyrost świeżej masy badanych gametofitów mchów wykazały stymulujące działanie tego gazu, niezależnie od barwy światła (Tab. 2). Z kolei wartości suchej masy gametofitów mchów zmieniały się w zależności od gatunku i składu spektralnego światła (Tab. 2).

Zróznicowany wpływ ozonu na wzrost elongacyjny i przyrost masy roślin wyższych opisują Franzaring i in. [2000]. Z badań Yamaguchi i in. [2008] wynika, że ozon powoduje spadek przyrostu biomasy ryżu, a według Nouchi i in. [1995] stymuluje jego wzrost. Wpływ stresu ozonowego na zmiany w produkcji biomasy opisano dla wielu gatunków roślin uprawnych [Drogoudi i Ashmore, 2002; Biswas i in., 2008]. Pfleeger i in. [2010] badali reakcję na ozon 60 gatunków roślin należących do 22 rodzin. Badacze ci pokazali, że bardzo wrażliwe na ozon są początkowe etapy wzrostu. W zależności od gatunku, rośliny produkują mniejsze ilości biomasy i przedwcześnie starzeją się.

Proctor i Tuba [2002] sugerują, że fizjologia mszaków różni się pod wieloma względami od tej obserwowanej u roślin wyższych, a różnice wynikają najprawdopodobniej z budowy i ekofizjologicznych adaptacji obu grup roślin. Według Lappalainen i in. [2008], przemiany metaboliczne mchów zależą nie tylko od obecności światła i CO₂, ale przede wszystkim od zawartości wody, której mała ilość powoduje zahamowanie ogólnego metabolizmu. Jak podaje Krupa [1974], proces wysuszenia i ponownego uwadniania mchów może być kilkakrotnie powtarzany nie wywołując znaczących zmian w funkcjonowaniu całego organizmu. W okresach letnich mszaki są na ogół suche i metabolicznie nieaktywne. Najlepiej do warunków wysokiego natężenia światła dostosowane są mszaki z torfowisk i innych mokrych siedlisk, które pozostają stale wilgotne nawet w pełnym słońcu [Proctor i Tuba, 2002]. Wybrane do badań gatunki mchów występują raczej na terenach o umiarkowanej wilgotności. W prezentowanej pracy nie stwierdzono istotnego wpływu składu spektralnego światła na stopień ich uwodnienia. Natomiast stres ozonowy, generalnie, powodował wzrost uwodnienia gametofitów (Tab. 2). Warto też zaznaczyć, że różnice w uwodnieniu gametofitów mchów mogą wynikać z ich poikilohydrycznego charakteru. U mchów część wody wiązana jest w przestrzeniach kapilarnych poza komórkami lub w apoplacie. Ta umiejętność ma duże znaczenie fizjologiczne, bowiem komórki mchów np. w zależności

od grubości ściany komórkowej mogą wykazywać zróżnicowane ilości wody w pełni turgoru [Tuba i in., 1996; Hájek i Beckett, 2008].

5.2. Wpływ składu spektralnego światła na destabilizację błon komórkowych gametoforów mchów podczas fumigacji ozonem

Czynniki stresowe oddziałujące na rośliny często prowadzą do uszkodzeń błon cytoplazmatycznych, których konsekwencją są zaburzenia przebiegających w komórce procesów fizjologicznych. W pierwszej kolejności zaburzenia te prowadzą do wycieku elektrolitów, a następnie wpływają na aktywność oddechową mitochondriów i na asymilację CO₂ w chloroplastach. Uszkodzenia te pojawiają się zarówno we wczesnych jak i w późnych stadiach ekspozycji roślin na dany czynnik stresowy [Kacperska, 2012].

Nadmierne natężenie światła może prowadzić do uszkodzeń błon komórkowych poprzez denaturację białek i inaktywację enzymów. Powstające uszkodzenia najczęściej są nieodwracalne, a w skrajnych przypadkach prowadzą do śmierci komórki lub całego organizmu [Kalaji i Łoboda, 2010]. Zaburzenia w błonach powodowane są nagromadzeniem RFT, które inicjują zmiany w warstwie lipidowej i białkowej [Antonnen i in., 1995]. Wzrasta wówczas przepuszczalność błon, która powoduje niekontrolowany wyciek elektrolitów, szczególnie jonów potasu [Starck i in., 1995].

Obserwacje związane z wpływem składu spektralnego światła na właściwości fizykochemiczne błon komórkowych mchów wskazują, że warunki świetlne (w zależności od gatunku) odgrywają bardzo ważną rolę w ich funkcjonowaniu. I tak, największy wpływ elektrolitów zaobserwowano dla *P. schreberi*, a najmniejszy u *P. formosum* (Ryc. 9). Wykazano, że składowa czerwona zwiększa destabilizację błon komórkowych zarówno u *P. cuspidatum* i *P. schreberi*. Natomiast składowa niebieska powoduje wzrost wypływu elektrolitów przez błony komórkowe mchów *P. formosum* i *P. schreberi* (Ryc. 9). Nie wiadomo czy ta odmienna przepuszczalność błon komórkowych jest wynikiem zmian składu chemicznego plazmolemy, czy też wynika ze zmian właściwości fizycznych błony. Trzeba bowiem pamiętać, że u mchów (w odróżnieniu od roślin wyższych) fitochrom działa głównie poprzez wiązanie się do plazmolemy (bez translokacji aktywnej fizjologicznie formy fitochromu do jądra).

Mimo, że ozon powoduje uszkodzenia struktur i funkcji błon biologicznych u roślin wyższych [Płażek i in., 2000], to w warunkach stresu ozonowego u mchów *Sphagnum* obserwowano jedynie niewielkie różnice w wypływie elektrolitów z komórek

[Niemi i in., 2002]. Podobne wyniki uzyskano w niniejszej pracy dla *P. cuspidatum* i *P. formosum*. Jednakże wykazano interakcję pomiędzy składem spektralnym światła a stresem ozonowym. Składowa czerwona (RGLB) zmniejszała bowiem, w porównaniu z kontrolą, stopień dezorganizacji błon komórkowych w warunkach stresu ozonowego (Ryc. 9A i B). Generalnie brak silnej reakcji mchów na ozon może oznaczać większą tolerancję badanych gatunków na ten czynnik stresowy. Odmienne obserwacje w tym zakresie przedstawili Potter i in. [1996]. W warunkach stresu ozonowego wykazali oni znaczący wzrost przepływu jonów potasu (K^+) przez błony u mchu *Sphagnum recurvum*. Vahisalu i in. [2010] stwierdzili natomiast, że ozon może także tymczasowo blokować kanały potasowe (K^+) i w konsekwencji prowadzić do utraty turgoru komórek [Torsethaugen i in., 1999]. Wpływ elektrolitów związany ze spadkiem ilości jonów potasu (K^+) w cytozolu odgrywa kluczową rolę w regulacji procesów anabolicznych i tych pobudzających procesy kataboliczne. W efekcie zestresowane rośliny przestają rosnąć, a energię wykorzystują tylko do walki ze stresem [Demidchik i in., 2014]. Zatem, w odpowiedzi roślin na stres ważna jest zdolność kontrolowania transportu jonów przez błony komórkowe. Reasumując, można stwierdzić, że mchy są bardzo niejednorodną grupą organizmów pod względem reakcji na ozon.

5.3. Wpływ składu spektralnego światła na zawartość Chl, Flv i wskaźnika NBI w warunkach stresu ozonowego

W środowisku leśnym, rośliny różnią się nie tylko pokrojem organów, ale także strukturą chloroplastów oraz składem barwników fotosyntetycznych. Jednymi z najważniejszych barwników roślinnych są jak powszechnie wiadomo chlorofile. Odpowiedzialne są one za absorpcję światła w procesie fotosyntezy i jego zamianę na energię chemiczną wykorzystywaną w syntezie związków organicznych. Ilość chlorofili w komórkach roślinnych jest cechą charakterystyczną dla gatunku i podlega zmianom w zależności od etapu rozwoju rośliny i działania czynników środowiska.

W porównaniu do roślin wyższych, całkowita zawartość Chl u mchów jest niższa, ale mimo to istnieje bardzo duże podobieństwo w aktywności fotosyntetycznej pomiędzy tymi grupami roślin [Marschall i Proctor, 2004]. Stosunkowo niską zawartość Chl wykazują zarówno mchy *Sphagnum* i *Racomitrium*, gatunki z siedlisk zacienionych (*Eurhynchium crassinervium*, *Plagiomnium undulatum*, *Plagiothecium undulatum*), torfowisk, łąk, jak i te z terenów w pełnym nasłonecznieniu. Różnice w zawartości Chl wynikają prawdopodobnie z jednowarstwowej liczby komórek budujących liście mchów

w stosunku do mezofilu liści roślin wyższych. Wyjątkiem okazują się być mchy *Polytrichaceae* (*Orthotrichum anomalum* i *Syntrichia intermedia*), które dzięki dużej zdolności adaptacyjnej komórek liści do światła, posiadają duże ilości Chl [Martin i Adamson, 2001]. W badaniach własnych u mchów rosnących w zróżnicowanym składzie spektralnym światła, według metody Barnes'a i in. [1992], największą zawartość zarówno całkowitego Chl (Chl *a+b*) jak i chlorofili Chl *a* i Chl *b* wykazano na WL (Tab. 3). Pomiary całkowitej zawartości Chl wykonane Dualexem wskazują natomiast, że największą zawartością Chl charakteryzowały się gametofory rosnące na WBL (Tab. 4). Różnice w zawartości Chl można tłumaczyć odmiennością dwóch zastosowanych metod. Podobny brak pełnej kompatybilności omawianych metod oznaczania Chl wykazała także Cencora [2016] u *Hieracium aurantiacum*.

Dane literaturowe dotyczące zmian zawartości Chl u mchów dotyczą głównie reakcji na zmianę natężenia, a nie składu spektralnego światła. Przy wysokim natężeniu światła zwiększa się zawartość Chl *a* i Chl *b* [Matysiak i Lorenc-Plucińska, 2000]. Liście roślin rosnących w zacieleniu zawierają natomiast więcej Chl *b* oraz mają bardziej rozbudowane tylakoidy gran [Théry, 2001; Lichtenthaler i in., 2007]. Sezonowe zmiany w koncentracji Chl (m.in. właśnie w związku ze zróżnicowanym natężeniem światła) występują także u mchu *Brachythecium rutabulum* [Kershaw i Weber, 1986]. U *H. splendens* i *P. commune* zwiększona intensywność promieniowania UV-B (niezależnie od uwodnienia tkanek) powoduje wzrost zawartości barwników fotosyntetycznych [Arróniz-Crespo i in., 2011]. W młodych gametofitach *Acrostichum danaeifolium* narażonych na promieniowanie UV-B następuje spadek zawartości Chl *a* i wzrost Chl *b* w kompleksach antenowych [Randi i in., 2014].

Gagnon i Karnosky [1992] stwierdzili, że stres ozonowy zmniejsza całkowitą zawartość Chl u mchów *S. magellanicum* i *S. flexuosum*. Natomiast Niemi i in. [2002] nie wykazali istotnych różnic w całkowitej zawartości Chl u mchów *Sphagnum* pod wpływem ozonu. Jak podają Stepień i Klobus [2005], zwiększoną wrażliwością na ozon odznaczają się liście roślin rosnących w zacieleniu, w porównaniu z liśćmi roślin rosnącymi w pełnym słońcu. Ozon indukuje stres oksydacyjny, powoduje zmniejszenie syntezy Chl jak i zwiększa jego rozkład w tkankach. W prezentowanej pracy ozon powoduje, w porównaniu z kontrolą, wzrost zawartości Chl w gametoforach i to niezależnie od składu spektralnego światła (Tab. 3 i 4). Zjawisko to wykazano badając zawartość Chl zarówno metodą Barnes'a i in. [1992] jak i metodą fluorescencyjną

(chlorofilomierz Dualex®). Na obecnym etapie badań zjawisko to jest trudne do jednoznacznej interpretacji.

Rinnan i Holopainen [2004] reakcje mchów na ozon tłumaczą zmianami powierzchni chloroplastów. Według wspomnianych autorów, latem u mchu *S. angustifolium* chloroplasty zmniejszają się już przy stężeniu ozonu 50 ppb, a u *S. papillosum* i *S. magellanicum* przy 100 ppb. Jesienią natomiast, powierzchnia chloroplastów nie ulega zmianom u *S. angustifolium*, a zmniejsza się wraz ze wzrostem stężenia ozonu u *S. papillosum*. W przypadku *S. magellanicum*, zależność wielkości chloroplastów od stężenia ozonu jest bardziej skomplikowana. I tak, w porównaniu do kontroli (0 ppb) i stężenia 50 ppb, chloroplasty są o 80 % większe przy stężeniu 100 ppb i około 20 % mniejsze przy stężeniu 150 ppb.

Zmiany stosunku zawartości Chl *a/b* wskazują na regulację proporcji pomiędzy PSI a PSII i dostosowanie się chloroplastów roślin do warunków środowiska. Rośliny rosnące w zacienieniu mają więcej Chl w większych granach i wykazują niski stosunek Chl *a/b*. Rośliny rosnące w pełnym nasłonecznieniu, w mniejszych, ale liczniejszych granach, zawierają mniej Chl i posiadają wyższe wartości Chl *a/b* [Porra, 2002]. Przedstawione wyniki badań własnych wskazują, że generalnie barwa światła nie wpływa na zmiany stosunku Chl *a/b*, a ozon powoduje jego obniżenie (Tab. 3). Otrzymane wyniki sugerują, że poszczególne gatunki mchów reagują różnie na ozon. A zatem, wpływ ozonu na poszczególne gatunki może być szkodliwy, pozytywny albo bez znaczenia [Gagnon i Karnosky, 1992; Musselman i Minnick, 2000].

Liście mchów zbudowane są z jednej i cienkiej warstwy komórek, na powierzchni których nie posiadają ochronnych wosków, a jedynie cienką warstwę lipidową. W związku z tym można przypuszczać, że mchy wykształciły nieco inne mechanizmy ochronne przed czynnikami stresowymi niż rośliny wyższe. Co więcej, u mchów stwierdzono występowanie wielu metabolitów pełniących funkcje ochronne (w tym Flv) [Zinsmeister i in., 1991; Geiger i in., 1997; Mues, 2000; Taipale i Huttunen, 2002]. I tak, na przykład *H. splendens* zawiera 5',3''-dihydroxyamentoflawony, a *P. schreberi* – biflawonoidy [Becker i in., 1986; Geiger i in., 1998]. Z gametofitów *Mnium hornum* wyizolowano biflawonoidy, a wśród nich grupę izoflawonów, które do tej pory stwierdzono tylko u niektórych roślin nasiennych [Brinkmeier i in., 1999]. U *P. undulatum* zidentyfikowano, oprócz już znanych biflawonoidów, nowe: 3'''-desoksydicranolomin, 2,3-dihydro-3'''-desoksydicranolomin and 2,3-dihydro-5',3'''-

dihydroksyrobustaflawon [Rampendahl i in., 1996]. Z kolei u *Polytrichales* dotychczas nie wykryto Flv [Asakava, 1995; Mues, 2000]. U *P. schreberi* i *H. splendens* w ścianach komórkowych zidentyfikowano m.in. kwasy hydroksylowe, kwasy dikarboksyłowe, kwasy tłuszczowe, alkohole [Kälviäinen i in., 1985]. Prezentowane w pracy badania własne wskazują, że różnice w zawartości Flv zależą głównie od gatunku (Tab. 4). Wytłumaczeniem takiej odpowiedzi może być różna budowa mchów i środowiska ich występowania. Jak podają Brinkmeier i in. [1999], biosynteza Flv stymulowana jest przez światło i zależy od fazy wzrostu mchów. U badanych gatunków mchów stres ozonowy, niezależnie od składu spektralnego światła, powoduje wzrost zawartości Flv (Tab. 4). Może to wskazywać, że w warunkach stresu ozonowego mchy uruchamiają ochronę aparatu fotosyntetycznego poprzez biosyntezę barwników fotoprotekcyjnych. Przypuszczenie to wymaga jednak potwierdzenia w dalszych badaniach. Zaskakujący jest jednak spadek zawartości Flv u *P. schreberi* obserwowany podczas fumigacji ozonem na RGBL (Tab. 4).

Wysokie wartości NBI obserwowane podczas fumigacji ozonem na WBL wskazują, że ten skład spektralny światła może być optymalny dla wzrostu mchów w warunkach stresu ozonowego (Tab. 4).

5.4. Sprawność fotosyntetyczna mchów

Green i Lange [1994] wykazali, że podstawowe procesy metaboliczne (m.in. fotosynteza) u większości gatunków mchów są takie same jak u roślin wyższych. Podobnie Martin i Adamson [2001], badając mchy i rośliny wyższe nie zaobserwowali różnic w aktywności metabolicznej pomiędzy tymi grupami roślin. Thornton i in. [2005] podają, że fotosynteza mchów *P. patens* i *C. purpureus* jest bardziej podobna do tej u roślin wyższych niż do obserwowanej u sinic i glonów. Green [1998] twierdzi natomiast, że relacje między transportem elektronów w PSII a wymianą CO₂ w procesie fotosyntezy i oddychania u mchów i porostów są różne od tych, zachodzących u roślin wyższych. Z kolei Marschall i Proctor [2004] zauważają, że różnice w fotosyntezie pomiędzy mszakami rosnącymi w miejscach nasłonecznionych a (światłolubnymi) roślinami wyższymi wynikają z ograniczeń w dyfuzji CO₂ do blaszki liściowej. Należy bowiem pamiętać, że u roślin wyższych wymiana CO₂ i wody jest regulowana przez aparaty szparkowe, których mszaki nie posiadają. Zamiast tego, tworzą one rozgałęzione struktury w formie baldachimu, które regulują ww. procesy [Rice i in., 2005]. Warto także

podkreślić, że mchy mimo prostej budowy liści wykazują jednak różnice w ich strukturze. Dotyczą one przede wszystkim zmian jakościowych, które można powiązać z powierzchnią asymilacyjną blaszek liściowych. Jedne mchy posiadają blaszki liściowe zbudowane z pojedynczej warstwy komórek (*Mnium affine*), inne tworzą lamelle w postaci kilku szeregów komórek przebiegających obok siebie (*P. commune*), a jeszcze inne w jednowarstwowej blaszce posiadają komórki chlorofilowe otoczone dużymi martwymi komórkami wypełnionymi wodą i powietrzem (*Sphagnum magellanicum*). Reasumując, warto zauważyć że fotosynteza u mszaków często odbywa się w deszczu lub przy pochmurnej pogodzie i z oświetleniem mniejszym niż 20 % pełnego oświetlenia [Mari Aro i Valanne 1979, Miyata i in. 2015].

Ocena aktywności fotosyntetycznej mchów, poprzez wyznaczenie parametrów sprawności fotochemicznej PSII, miała na celu sprawdzenie na ile ozon w zróżnicowanym składzie spektralnym światła powoduje zaburzenia w przebiegu tego procesu. W prezentowanej pracy wykazano, że ozon, niezależnie od gatunku i składu spektralnego światła, wpływa na funkcjonowanie PSII. Wywołane przez ten gaz zmiany w aktywności fotochemicznej PSII uwidaczniały się szczególnie poprzez wpływ na wartości parametrów kinetyki fluorescencji Chl *a* takich jak: F_v/F_m , NPQ, Rfd i Q_p oraz QY (Ryc. 10).

Dla większości roślin parametr F_v/F_m jest uważany za najbardziej czuły wskaźnik charakteryzujący aparat fotosyntetyczny. Spadek jego wartości poniżej 0,83 w warunkach stresowych świadczy o uszkodzeniach funkcji PSII [Guidi i in., 2007]. Obniżenie wartości F_v/F_m obserwowane w prezentowanej pracy można, generalnie, przypisać wzrostowi F_0 i spadkowi F_m (Ryc. 10). Zmienne wartości F_0 mogą być wynikiem wzrostu liczby nieaktywnych centrów reakcji, z których elektrony nie mogą być przenoszone na zredukowany plastochinon. Innymi czynnikami ograniczającymi mogą być dysocjacja LHCII z części korowej PSII lub degradacja białka D1 i inaktywacja centrów reakcji w PSII [Havaux, 1993; Rintamäki i in., 1995]. Przypuszcza się zatem, że wzrost F_0 jest z jednej strony związany z trwałymi fotoinhibicyjnymi uszkodzeniami w centrach reakcji PSII, a z drugiej strony – nietrwale uszkodzenia powodują, że F_0 może wykazywać szybki i pełny powrót do wartości kontrolnych. Dodatkowo, opisane w niniejszej pracy (Ryc. 10) niższe wartości F_m u mchów mogą sugerować, że nie wszystkie akceptory elektronów w PSII są całkowicie zredukowane pod wpływem ozonu [Kalaji i Łoboda, 2010]. Podobne obserwacje, pod względem wartości omawianego parametru F_v/F_m , wykazali Gagnon i Karnosky [1992] u mchów *S. magellanicum*,

S. flexuosum i *S. rubellumuoia*. Fumigacja ozonem tylko u *S. recurvum* powodowała znaczne obniżenie asymilacji CO₂ i aktywności PSII. Z kolei Potter i in. [1996] nie obserwowali istotnych zmian w fotosyntezie pod wpływem ozonu u *S. capillijolium*, *S. papillosum* i *S. cuspidatum*. Według Scheideggera i Schroetera [1995], u porostów (*Anaptychia ciliaris*, *Collema nigrescens*, *Evernia prunastri*, *Hypogymnia bitteri*, *Lobaria pulmonaria*) ozon już przy niskich stężeniach wywoływał znaczący spadek F_v/F_m. Guidi i in. [2007] w ozonowanych liściach łubinu białego (*Lupinus albus*) wykazali niższe wartości F_v/F_m w miejscach użytkowania liści niż w pozostałej części mezofilu. Poza tym, należy pamiętać że rośliny rosnące w zacieleniu mają stosunkowo niską zdolność do transportu elektronów w procesie fotosyntezy i do wiązania CO₂ [Lichtenthaler i Babani, 2004; Rice i in., 2005]. W przypadku mchów wynika to najprawdopodobniej z ich prostej budowy, ale również z tego, że ich liście są znacznie cieńsze od liści roślin rosnących w pełnym słońcu [Pearcy i Sims, 1994].

Opisane zmiany parametru F_v/F_m wiążą się ze wzrostem wartości wygaszania niefotochemicznego (NPQ) [Maxwell i Johnson, 2000]. Wysokie wartości NPQ u mszaków są na ogół związane ze względną szybkością transportu elektronów [Marschall i Proctor, 2004] oraz wynikają z rozpraszania energii wzbudzenia w postaci ciepła [Proctor i Smirnoff, 2000]. U mchów *Polytrichaceae*, NPQ rośnie wraz ze wzrostem natężenia promieniowania, ale na ogół tylko do poziomu około 4, podczas gdy u wielu innych mchów z terenów otwartych NPQ może osiągać wartości 10-15 [Proctor, 2005]. Na przykład, u mchów rosnących w cieniu NPQ przyjmowało wartość pomiędzy 3 a 4. Jeszcze niższe wartości tego parametru obserwowano u mchów *Hookeria lucens*, *Jubula hutchinsia*, *Trichocolea tomentella*, *Polytrichaceae* rosnących w pełnym zacieleniu. U gatunków z siedlisk słonecznych, NPQ przyjmowało z kolei wartości powyżej 10. O wysokiej zdolności fotoochronnej mchów świadczy spadek wartości NPQ u roślin przenoszonych z miejsc o wysokim natężeniu światła do cienia [Martin i Adamson, 2001]. Obserwacje te potwierdzają badania Proctora i Smirnoffa [2011] prowadzone na mchach z terenów zacielenionych (*P. undulatum*, *Trichocolea tomentella*) i nasłonecznionych (*Andreaea rothii*, *Schistidium apocarpum*, *Sphagnum*). W warunkach wysokiego natężenia światła u *Polytrichaceae* wychwytywanie CO₂ przez górną stronę blaszek liściowych zapobiega przepływowi elektronów i wysokim wartościom NPQ [Heber i in., 2001; Proctor, 2005]. Nadmierna energia rozpraszana jest w podjednostkach białkowych PSII (PSBS) lub przez zmianę poziomu akumulacji białek LHC, które są aktywne m.in. u mchu *P. patens* i niezależnie od siebie regulują aktywność NPQ [Gerotto

i in., 2012]. Należy także pamiętać, że ilość energii rozpraszanej w postaci ciepła w PSII jest zależna od obecności zeaksantyny i anteraksantyny oraz deopoksykacji składników cyklu ksantofilowego [Demmig-Adams i Adams, 1996; Watling i in., 1997]. W prezentowanych badaniach, dla wszystkich trzech gatunków mchów, wykazano że podczas fumigacji ozonem, niezależnie od barwy światła, następuje intensywny wzrost wartości NPQ względem roślin rosnących w kontroli (Ryc. 10). Heber i in. [2006] takie reakcje roślin tłumaczą zwiększonym odprowadzaniem energii cieplnej.

W przypadku parametru Rfd, w przeprowadzonych badaniach własnych obserwowano wzrost jego wartości pod wpływem ozonu zupełnie niezależnie od składu spektralnego światła (Ryc. 10). Taka odpowiedź mchów może świadczyć zarówno o zwiększonej ich aktywności fotosyntetycznej podczas fumigacji ozonem jak i o braku naruszenia asymilacji CO₂ [Lichtenthaler i Rinderle, 1988].

Wysokie stężenie ozonu, ograniczając transport elektronów przez PSII, zmniejsza jednocześnie zdolność wykorzystywania energii świetlnej i liczbę otwartych centrów PSII (Qp). Niskie wartości Qp, prezentowane na rycinie 10, wskazują na zmniejszone tempo ponownego utlenienia akceptorów elektronów i prowadzą do zwiększonego udziału zamkniętych centrów PSII [Chang i Yu, 2001; Calatayud i in., 2002; Zhang i in., 2011]. Niskie wartości QY mogą świadczyć natomiast o zaburzeniach transportu elektronów oraz wydajności fotorespiracji (Ryc. 10).

Podsumowując, z przeprowadzonych badań wynika, że ozon w połączeniu z intensywnym oświetleniem potęguje uszkodzenia PSII (Ryc. 10) [Guidi i in., 2002]. Warto jednak zaznaczyć, że rośliny w celu zminimalizowania uszkodzeń PSII, w zależności od gatunku, fazy rozwojowej i stanowiska występowania ciągle kształtują mechanizmy fotochronne oraz wieloetapowe cykle naprawy [Allen i in., 1998; Matysiak i Lorenc-Plucińska, 2000; Heber i in., 2001; Proctor i in., 2007; Kirchhoff, 2014]. Jednym z przykładów regulowania ilości światła docierającego do roślin są szybkie rearanżacje położenia chloroplastów w komórce [Augustynowicz i Gabryś, 1999]. U mchu *P. patens*, ruchy chloroplastów są sterowane przez światło niebieskie i daleką czerwień [Kadota i in., 2000; Kasahara i in., 2004]. Odbywa się to najprawdopodobniej przez reorganizację mikrofilamentów aktyny i tubuliny [Sato i in., 2001; Yamashita i in., 2011].

5.5. Intensywność przebiegu procesów metabolicznych mchów

Wzrost roślin określany jest często przez analizy morfometryczne obejmujące oznaczanie przyrostu roślin na długość, masy ich organów oraz stopnia ich uwodnienia. Inne spojrzenie na wzrost roślin umożliwia technika kalorymetrii izotermicznej. Pozwala ona na jednoczesne śledzenie emisji mocy cieplnej oraz pomiar całkowitej energii cieplnej związanej z procesem (entalpia) wzrostu. Metoda ta opiera się przede wszystkim na rejestrowaniu ilości energii koniecznej do prowadzenia procesów życiowych przez organizmy żywe. Energia emitowana przez roślinę odzwierciedla bowiem zarówno jej aktywność metaboliczną, jak i zmiany tej aktywności w odpowiedzi na abiotyczne i biotyczne czynniki środowiska [Skoczowski i Troć, 2013].

W niniejszej pracy przedstawiono reakcje energetyczne mchów fumigowanych ozonem w zróżnicowanym składzie spektralnym światła. Ze względu na niewielki zasób literatury w zakresie badań kalorymetrycznych dotyczących mchów, otrzymane wyniki porównano z parametrami dotyczącymi oddychania i z procesami metabolicznymi zachodzącymi u glonów i roślin wyższych. Pokazano, że kształt krzywych specyficznej mocy cieplnej, niezależnie od barwy światła i obecności ozonu, był podobny u *P. cuspidatum* i *P. schreberi* (Ryc. 11 i 12). Pozwala to przypuszczać, że przemiany metaboliczne u tych gatunków zachodzą z podobną intensywnością. Na szczególną uwagę zasługują krzywe specyficznej mocy cieplnej u *P. formosum* (Ryc. 13) o nieco innym kształcie niż te otrzymane u wspomnianych wcześniej gatunków *P. cuspidatum* i *P. schreberi* (Ryc. 11 i 12). Pomiary kalorymetryczne, zwłaszcza u mchu *P. formosum* w warunkach kontrolnych, ujawniają wyraźną prawidłowość polegającą na stopniowym obniżaniu się ilości emitowanej mocy cieplnej w ciągu nocy, a następnie wzrost tej emisji przez pierwsze godziny dnia (Ryc. 13). Podobne, ale mniej wyraźnie zaznaczone, zmiany kształtu krzywych specyficznej mocy cieplnej zaobserwowano dla tego mchu podczas fumigacji ozonem w każdym ze składów spektralnych światła (Ryc. 13). Takie zmiany w emisji mocy cieplnej mogą sugerować, że rośliny posiadają pewną zakodowaną informację o cyklu przemian okołodobowych. Natomiast duże podobieństwo kształtu krzywych emisji specyficznej mocy cieplnej przez gametofity mchów dowodzi braku silnego wpływu barwy światła i ozonu na intensywność procesów metabolicznych uruchamianych przez te czynniki (Ryc. 11 – 13).

Analiza wartości specyficznej energii cieplnej wskazuje na wzrost aktywności metabolicznej *P. cuspidatum* oraz *P. formosum* rosnących na RGLB (Ryc. 14A i C).

Wpływ barwy światła na mierzoną wpływem ciepła aktywność metaboliczną obserwowano również u *Chlorella vulgaris* [Kula i in., 2014]. W ostatnim przypadku wzrost aktywności metabolicznej powodowany był jednak przez światło niebieskie. Reasumując, wydaje się że wpływ barwy światła na aktywność metaboliczną zależy silnie od gatunku roślin.

Stres ozonowy powodował obniżenie aktywności metabolicznej niektórych gatunków mchów. Dotyczy to *P. cuspidatum* rosnących na RGLB oraz *P. formosum* na WL, RGLB oraz WBL (Ryc. 14A i C). Podobne obniżenie aktywności metabolicznej w warunkach stresu ozonowego obserwowano u *Brassica pekinensis* [Skoczowski i Troć, 2013].

Uzyskane wyniki sugerują, że przemiany metaboliczne mchów są zależne przede wszystkim od gatunku i budowy anatomiczno-morfologicznej, które odgrywają kluczową rolę w odpowiedzi mchów na zmieniające się czynniki środowiska. Wnioski te wydają się być słuszne w porównaniu z dostępnymi danymi literaturowymi. Seel i in. [1992] podkreślają, że w reakcjach mszaków na światło ważne są dwa aspekty. Pierwszy to zdolność utrzymania dodatniego bilansu węgla w miejscach zacienionych, a drugi to duża podatność mszaków na fotoinhibicję przy wysokim natężeniu światła.

Konkludując, warto podkreślić że kalorymetria izotermiczna jest metodą, która pozwala na wykazanie różnic zarówno w emisji specyficznej mocy cieplnej oraz emisji całkowitej energii cieplnej pomiędzy gatunkami jak i w obrębie danego gatunku. Za jej stosowaniem przemawia możliwość obserwacji często słabo zauważalnych zmian w intensywności procesów metabolicznych, ciągłość pomiarów i co ważne brak ingerencji innych czynników środowiska w badane procesy metaboliczne. Z tego powodu pomiary kalorymetryczne są bardzo przydatne, zwłaszcza w szacowaniu aktywności metabolicznej odpowiedzi roślin na czynniki stresowe [Skoczowski i in., 2011b, 2013; 2015].

5.6. Niebiesko-zielona i czerwona fluorescencja liści mchów

Widma emisji fluorescencji liści mogą być stosowane do oceny stanu fizjologicznego roślin w warunkach stresowych. Fluorescencja niebiesko-zielona (F450 – F530) jest wynikiem obecności związków fenolowych zarówno w algach [Kula i in., 2016] jak i w epidermie liści [Saja i in., 2016]. Źródłem niebieskiej fluorescencji (F450) są pochodne kwasu cynamonowego: kwas ferulowy, kwas sinapowy i kwas kawowy.

Za fluorescencję w zakresie zielonym (F520) odpowiadają berberyna, kwercetyna i ryboflawina [Lang i in., 1991]. Natomiast źródłem fluorescencji w zakresie czerwonym i dalekiej czerwieni jest Chl stanowiący centra reakcji PSII i kompleksy antenowe. Wykazuje on maksimum emisji w zakresie czerwonym pomiędzy 685 – 690 nm (najczęściej F690) i w zakresie dalekiej czerwieni w pobliżu 735 nm (F735) [Gitelson i in., 1998].

Analizując widma emisji fluorescencji w zakresie niebiesko-zielonym obserwowano wzrost intensywności fluorescencji u *P. cuspidatum* oraz *P. formosum* w warunkach stresu ozonowego, niezależnie od składu spektralnego światła (Ryc. 15 i 16). U *P. schreberi* ozon powodował natomiast obniżenie intensywności fluorescencji w omawianym zakresie (Ryc. 17). Należy podkreślić, że w porównaniu z roślinami jedno- i dwuliściennymi [Lichtenthaler i in., 1998] u badanych gatunków mchów w zakresie niebiesko-zielonym, nie występuje pik przy 450 nm. Jednakże, niezależnie od gatunku i warunków wzrostu, w obrębie omawianej fluorescencji, można wyodrębnić dwa bardzo wyraźne pasma przy 530 i 595 nm (Ryc. 15–17 A–C). Jak piszą Richter i Lichtenthaler [1996], w warunkach stresowych może następować podwyższenie fluorescencji zielonej, przewyższające nawet maksimum widma niebieskiego. Można zatem przypuszczać, że otrzymane piki są cechą gatunkową. Pod wpływem stresu, w roślinie, następuje zwiększona produkcja związków fenolowych, które prawdopodobnie są oznaką kształtowania odporności na stres [Randi i in., 2014]. Takim reakcjom na stres towarzyszy obecność dużych ziaren skrobi w chloroplastach. Wzrost zawartości węglowodanów umożliwia bowiem kosztowną energetycznie syntezę metabolitów wtórnych, takich jak związki fenolowe i terpenowe [Hamilton i in., 2001]. Na przykład u *Spirulina platensis*, fenole są intensywniej produkowane w spektrum niebiesko-czerwonym niż w dalekiej czerwieni czy na WL [Kula i in., 2016]. U mchu *A. danaeifolium* ilość fenoli wzrasta pod wpływem promieniowania UV-B [Randi i in., 2014]. U *Centaurea cyanus* produkcja fenoli zmienia się z kolei w zależności od odporności na tribenuron metylowy [Saja i in., 2016].

W przypadku fluorescencji czerwonej i w dalekiej czerwieni, u *P. cuspidatum* oraz *P. schreberi* obserwowano wzrost intensywności fluorescencji w warunkach stresu ozonowego, niezależnie od składu spektralnego światła (Ryc. 15 i 17). Natomiast u *P. formosum* ozon powodował obniżenie intensywności fluorescencji w omawianym zakresie (Ryc. 16).

Powyższe obserwacje odzwierciedlają współczynniki intensywności fluorescencji (Tab. 5). Najbardziej wrażliwymi wskaźnikami pokazującymi działanie stresora na tkankę roślinną są współczynniki fluorescencji niebieskiej do czerwonej (F450/F690) i niebieskiej do dalekiej czerwieni (F450/F735) [Schweiger i in., 1996]. Wartość intensywności fluorescencji niebieskiej i zielonej z liści roślin pozostaje zazwyczaj stała podczas ekspozycji liści na światło [Stober i Lichtenthaler, 1993], w przeciwieństwie do fluorescencji Chl w zakresie czerwonym i dalekiej czerwieni [Richter i Lichtenthaler, 1996]. Z kolei wartość współczynnika F690/735 zmniejsza się wraz ze wzrostem zawartości Chl w liściach [Lichtenthaler i Rinderle, 1988]. W prezentowanej pracy pokazano, że u roślin kontrolnych rosnących na WBL liście charakteryzują się wyższymi wartościami współczynników F440/F530, F440/F690, F440/F735 w porównaniu do tych rosnących na WL i RGBL (Tab. 5). Może to wskazywać, że zwiększony udział barwy niebieskiej w widmie światła białego działa stresogennie na mchy. Analiza ww. współczynników podczas stresu ozonowego nie pozwala na wyłonienie ogólnych prawidłowości zmian ich wartości w zależności od gatunku mchu i barwy światła (Tab. 5). Jedynie w przypadku *P. formosum* stres ozonowy na RGBL powoduje wzrost wartości wszystkich współczynników w porównaniu z kontrolą.

Jak powiedziano powyżej, wartości współczynnika F690/F735 są odwrotnie proporcjonalne do zawartości Chl w liściach [Lichtenthaler i in., 1990]. Na podstawie analizy zmian wartości tego współczynnika można zatem powiedzieć, że u mchów *P. formosum* oraz *P. schreberi* ozon nie wpływał na zawartość Chl na WL, obniżał jego zawartość na RGBL, natomiast powodował wzrost zawartości Chl na WBL (Tab. 5). Wskazuje to, że duży udział składowej czerwonej w widmie światła niekorzystnie wpływa na zawartość Chl w warunkach stresu ozonowego. W przypadku *P. cuspidatum* obserwowano wzrost zawartości Chl na WL i RGBL oraz spadek jego zawartości na WBL (Tab. 5).

Generalnie, stwierdzono wzrost zawartości Chl w warunkach stresu ozonowego u wszystkich gatunków mchów. Wpływ barwy światła na wzrost zawartości Chl w gametoforach mchów pod wpływem ozonu nie jest jednak jednoznaczny. Obraz ww. zależności był bowiem inny w przypadku oceny ilości Chl metodą Barnes'a [1992] i chlorofilomierzem Dualex®, a inny w przypadku oszacowań

spektrofluorymetrycznych. Niemniej jednak, można przyjąć że ozon powoduje wzrost zawartości Chl w gametoforach mchów.

Wartość zaproponowanego współczynnika fluorescencji F595/F530 zmienia się przede wszystkim w zależności od gatunku (Tab. 5). Można zatem przypuszczać, że omawiany współczynnik może być w przyszłości dobrym narzędziem do szybkiej charakterystyki gatunku mchów. Wymagać to jednak będzie zakrojonych na szeroką skalę badań porównawczych, które umożliwią powiązanie intensywności fluorescencji liści w zakresie zielonym z konkretnym gatunkiem mchu.

W niniejszej pracy dokonano zestawienia współczynników wskazujących na aktywność części korowej i antenowej fotosystemów PSI i PSII według Jena i in. [2012]. Z badań wspomnianych autorów wynika, że w warunkach stresowych wraz ze spadkiem intensywności fluorescencji zarówno części antenowej jak i korowej w PS, następuje wzrost wartości stosunku intensywności ich fluorescencji. W przypadku mchów, niezależnie od gatunku i składu spektralnego światła, wartości tych współczynników były bardzo zróżnicowane i nie pozwoliły na sformułowanie ogólnych zależności (Tab. 6).

Konkludując, można powiedzieć że czynniki stresowe zwykle prowadzą do uszkodzeń aparatu fotosyntetycznego roślin. W takich przypadkach uruchamiane są mechanizmy obronne, które mogą polegać m.in. na akumulacji fenoli roślinnych. Promieniowanie UV jest przetwarzane na fluorescencję niebiesko-zieloną (F450 i F520), która jest częściowo reabsorbowana przez barwniki asymilacyjne [Bilger i in., 2001; Schmitz-Hoerner i Weissenbock, 2003]. Wartość intensywności fluorescencji niebiesko-zielonej i czerwonej zależy od gatunku rośliny i warunków stresowych, w których się znajduje. U roślin fumigowanych ozonem w różnym składzie spektralnym światła jest jednym z elementów strategii obronnej, w ramach której rośliny uruchamiają mechanizmy zabezpieczające aparat fotosyntetyczny liści przed uszkodzeniami (Ryc. 15–17).

Warto podkreślić, że prezentowane badania są pierwszymi dotyczącymi fluorescencji liści mchów. Powoduje to brak możliwości bezpośredniego odniesienia otrzymanych wyników do danych literaturowych. Z drugiej strony, otwiera to drogę do dalszych kompleksowych eksperymentów, które pozwolą na badanie odpowiedzi mchów na różne czynniki stresowe przy wykorzystaniu metod spektralnych.

5.7. Aktywność SOD gametoforów *Plagiomnium cuspidatum*

Ozon troposferyczny bierze udział w powstawaniu rodników wodorotlenowych wpływających na zawartość związków oksydacyjnych w atmosferze [Oltmans i in., 2006]. Gaz ten dyfundując do wewnętrznych przestrzeni powietrznych liści ulega gwałtownemu rozkładowi na bardziej RFT [Schraudner i in., 1998]. Przyspieszają one peroksydację lipidów, rozkład pigmentów fotosyntetycznych, zmniejszają asymilację CO₂ i akumulację biomasy [Langebartels i in., 2002; Fiscus i in., 2005]. Fitotoksyczność ozonu powstaje, głównie ze względu na jego wysoką zdolność oksydacyjną, poprzez indukcję RFT na różnych poziomach komórkowych.

Stresy środowiskowe generując u roślin produkcję RFT indukują równocześnie wzrost aktywności izoform SOD [Van Camp i in., 1994a]. Autorzy podają zazwyczaj całkowitą aktywność SOD, tj. bez rozbicia na aktywność poszczególnych izoform (jak ma to miejsce w prezentowanej pracy). I tak, Choudhury i Panda [2005] obserwowali wzrost aktywności SOD u mchu *Taxi thlium nepalense* (Schwaegr.) wywołany obecnością metali ciężkich w środowisku wodnym. Promieniowanie UV-B oraz jony Cd²⁺ powodowały wzrost aktywności SOD u *Riccia* sp. [Prasad i in., 2004], a jony miedzi zwiększały aktywność SOD u *Lemna minor* [Panda, 2008]. Wzrost aktywności MnSOD w mitochondriach miał niewielki wpływ na tolerancję na ozon, natomiast produkcja SOD w chloroplastach zmniejszała uszkodzenia powodowane przez ten gaz [Van Camp i in., 1994b]. Li i in. [2013] donoszą, że już jednodniowa fumigacja ozonem roślin *T. aestivum* cv Liangxing99 i *Descurainia Sophia* wywoływała zmiany w aktywności SOD. Dla pszenicy ozimej aktywność ta stymulowana była przy stężeniu ozonu 80 ppb, a zmniejszała się przy 120 ppb.

W ekstraktach z gametoforów *P. cuspidatum* zidentyfikowano dwie izoformy SOD: MnSOD oraz Cu/ZnSOD (Ryc. 18). Nie stwierdzono natomiast obecności FeSOD – enzymu charakterystycznego dla chloroplastów. Sytuacja ta nie jest zaskakująca, bowiem inni autorzy [Płażek i in., 2009; Gawrońska i Gołębiowska-Pikania, 2015] także nie obserwowali obecności FeSOD w ekstraktach z liści jęczmienia, kostrzewy łąkowej oraz pszenżyta ozimego. Brak pasma FeSOD na żelach elektroforetycznych pokazuje, że zastosowana metoda analizy nie zawsze pozwala na wykrycie omawianej izoformy SOD. Na podstawie braku pasma FeSOD na żelach nie można natomiast wnosić o całkowitym braku tego enzymu w tkance. Uzyskane wyniki wskazują, że dla mchu *P. cuspidatum* w warunkach stresu ozonowego tylko na RGBL

i WBL modyfikacja ekspresji genu kontrolującego syntezę miedziowo-cynkowej dysmutazy ponadtlenkowej jest jednym z elementów odpowiedzi na stres abiotyczny. Ekspresja genów kontrolujących dysmutazy ponadtlenkowe, w tym Cu/ZnSOD, stanowi bardzo istotny czynnik decydujący o aklimacji roślin do niekorzystnych warunków środowiska. Porównanie schematów reakcji uzyskanych dla różnych gatunków roślin sugeruje, że istnieją pomiędzy nimi istotne różnice w zakresie adaptacji do wzrostu i rozwoju, w warunkach stresu abiotycznego związanego z generowaniem reaktywnych form tlenu. Wyniki badań własnych, jak również prezentowane w wyżej cytowanych publikacjach wskazują na konstytutywny mechanizm reakcji roślin na stres oksydacyjny na poziomie zmian w ekspresji genu Cu/ZnSOD, a tempo aklimacji i stopniowe przystosowania procesów fizjologicznych do niekorzystnych warunków środowiska jest różne. Rośliny *P. cuspidatum* na WL mogą być potencjalnie mniej wrażliwe na zanieczyszczenie ozonem w stosunku do mchów rosnących na RGL i WBL. Potwierdzenie tej hipotezy wymaga analizy ekspresji i aktywności także innych enzymów zaangażowanych w procesy detoksyfikacji RFT.

Uzyskane rezultaty wskazują, że nadmiar promieniowania niebieskiego w widmie światła białego potęguje niekorzystne działanie ozonu na mchy. Nie można wykluczyć, że obserwacja ta dotyczyć może także roślin wyższych.

6. WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów można sformułować następujące wnioski:

1. Indukowane przez ozon zmiany w morfologii mchów zależą od gatunku, a w jego obrębie od składu spektralnego światła.
2. Stres ozonowy hamuje wzrost wydłużeniowy gametofitów mchów i, niezależnie od barwy światła, stymuluje wzrost świeżej masy i stopień uwodnienia mchów.
3. Przewaga składowej czerwonej w widmie promieniowania świetlnego zmniejsza przepuszczalność błon komórkowych mchów powodowanej przez ozon.
4. Całkowita zawartość chlorofilu w gametoforach mchów zwiększa się w warunkach stresu ozonowego. Względny wzrost zawartości chlorofilu w porównaniu z kontrolą uzależniony jest jednak od składu spektralnego światła.
5. Ozon, niezależnie od składu spektralnego światła, zwiększa zawartość Flv w gametoforach mchów.
6. Wartość wskaźnika NBI istotnie wzrasta pod wpływem stresu ozonowego u *P. cuspidatum* oraz u *P. formosum*. Wzrost wartości wskaźnika NBI u roślin poddanych fumigacji ozonem jest najwyższy na świetle białym (WL).
7. Niezależnie od barwy światła, ozon istotnie wpływa na sprawność aparatu fotosyntetycznego mchów. Znajduje to swoje odzwierciedlenie w zmianach wartości takich parametrów opisujących wydajność fotochemiczną PSII jak: F_v/F_m , NPQ, Rfd, Qp i QY.
8. Kalorymetria izotermiczna pozwala na pomiar aktywności metabolicznej mchów, która jest proporcjonalna do ilości emitowanej przez nie energii cieplnej.
9. Na RGLB ozon obniża aktywność metaboliczną mchów *P. cuspidatum* oraz *P. formosum*.

10. Porównania widm emisyjnych niebiesko-zielonej i czerwonej fluorescencji liści mchów pozwalają na wykazanie różnic pomiędzy roślinami fumigowanymi ozonem a tymi rosnącymi w warunkach kontrolnych.
11. Zwiększona aktywność izoform SOD u mchu *P. cuspidatum* wskazuje, że nadmiar promieniowania niebieskiego w widmie światła białego potęguje stres oksydacyjny powodowany przez ozon.
12. Odpowiedź mchów na czynniki stresowe jest specyficzna i silnie zależna od gatunku, budowy anatomiczno-morfologicznej oraz środowiska występowania. Różnice w reakcji na zastosowane bodźce środowiskowe są najbardziej widoczne pomiędzy gatunkiem *P. formosum*, a gatunkami *P. schreberi* oraz *P. cuspidatum*.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Ahmad M., Jarillo J.A., Smirnova O., Cashmore A.R. (1998) The CRY1 blue light photoreceptor of *Arabidopsis* interacts with phytochrome A *in vitro*. *Molecular Cell* 1: 939–948.
2. Ainsworth E.A., Yendrek C.R., Sitch S., Collins W.J., Emberson L.D. (2012) The effects of tropospheric ozone on net primary productivity and implications for climate change. *Annual Review of Plant Biology* 637–663.
3. Akimoto H. (2003) Global air quality and pollution. *Science* 302: 1716–1719.
4. Allen D.J., Nogués S., Baker N.R. (1998) Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* 49(328): 1775–1788.
5. Alyabyev A.J., Loseva N.L., Gordon L.K., Andreyeva I.N., Rachimova G.G., Tribunskih V.I., Ponomareva A.A., Kempb R.B. (2007) The effect of changes in salinity on the energy yielding processes of *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella maritima* cells. *Thermochimica Acta* 458: 65–70.
6. Anttonen S., Herranen J., Peura P., Kärenlampi L. (1995) Fatty acids and ultrastructure of ozone-exposed aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill) needles. *Environmental Pollution* 87: 235.
7. Aphalo P.J. (2006) Light signals and the growth and development of plants – a gentle introduction. *The Plant Photobiology Notes* 1: 1–39.
8. Arróniz-Crespo M., Gwynn-Jones D., Callaghan T.V., Nunez-Olivera E., Martinez-Abaigar J., Horton P., Phoenix G.K. (2011) Impacts of long-term enhanced UV-B radiation on bryophytes in two sub-Arctic heathland sites of contrasting water availability. *Annals of Botany* 108: 557–565.
9. Asakava Y. (1995) Chemical constituents of the bryophytes. (Progress in the chemistry of organic natural products). Springer Verlag Vienna, s. 65.
10. Augustynowicz J., Gabryś H. (1999) Chloroplast movements in fern leaves: correlation of movement dynamics and environmental flexibility of the species. *Plant, Cell and Environment* 22: 1239–1248.
11. Bäck J., Vanderklein D.W., Topa M.A. (1999) Effects of elevated ozone on CO₂ uptake and leaf structure in sugar maple under two light environments. *Plant, Cell and Environment* 22: 137–147.
12. Bajji M., Kinet J.M., Lutts S. (2002) Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth and ion content of *Atriplex halimus* (*Chenopodiaceae*). *Canadian Journal of Botany* 80: 297–304.
13. Baker N.R., Rosenquist E. (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* 55(403): 1607–1621.

14. Baltruschat H., Fodor J., Harrach B.D., Niemczyk E., Barna B., Gullner G., Janeczko A., Kogel K.-H., Schäfer P., Schwarczinger I., Zuccaro A., Skoczowski A. (2008) Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist* 180: 501–510.
15. Barnes J.D., Balaguer L., Manrique E., Elvira S., Davison A.E. (1992) A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls *a* and *b* in lichens and higher plants. *Environmental Experimental Botany* 32: 85–100.
16. Bates J.W. (2000) Mineral nutrition, substratum ecology, and pollution. [W:] Shaw A.J., Goffinet B. (red) *Bryophyte Biology*. Cambridge University Press, Cambridge, s. 248–311.
17. Bates J.W., Wibelmann M.H., Proctor M.C.F. (2009) Salinity responses of halophytic and non-halophytic bryophytes determined by chlorophyll fluorometry. *Journal of Bryology* 31: 11–19.
18. Beauchamp C., Fridovich I. (1971) Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44: 276–287.
19. Becker R., Meus R., Zinsmeister H.D., Herzog F., Geiger H. (1986) A new biflavone and further flavonoids from the moss *Hylocomnium splendens*. *Zeitschrift für Naturforsch* 41C: 507–510.
20. Bednarz Z., Koczwańska J. (1976) *Atlas roślin runa leśnego*. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne Warszawa, s. 29–48.
21. Bilger W., Johnsen T., Schreiber U. (2001) UV-excited chlorophyll fluorescence as a tool for the assessment of UV-protection by the epidermis of plants. *Journal of Experimental Botany* 52: 2007–2014.
22. Bingham A., Porter E. (2015) Ozone effects on two ecosystem services at Great Smoky Mountains National Park, USA. *Park Science Integrating Research and Resource Management in the National Park* 32(1): 71–79.
23. Biswas D.K., Xu H., Li Y.G., Liu M.Z., Chen Y.H., Sun J.Z., Jiang G.M. (2008) Assessing the genetic relatedness of higher ozone sensitivity of modern wheat to its wild and cultivated progenitors/relatives. *Journal of Experimental Botany* 59: 951–963.
24. Björkman O., Demmig B. (1987) Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489–504.
25. Black V.J., Black C.R., Roberts J.A., Stewart C.A. (2000) Impact of ozone on the reproductive development of plants. *New Phytologist* 147: 421–447.
26. Blum A., Ebercon A. (1981) Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science* 21: 43–47.
27. Bohnert H.J., Nelson D.E., Jensen R.G. (1995) Adaptations to environmental stresses. *The Plant Cell* 7: 1099–1111.
28. Bradford M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248–254.

29. Brinkmeier E., Geiger H., Zinsmeister H.D. (1999) Biflavonoids and 4,2'-epoxy-3-phenylcoumarins from the moss *Mnium hornum*. *Phytochemistry* 52: 297–302.
30. Broadmeadow M. (1998) Ozone and forest trees. *New Phytologist* 139: 123–125.
31. Buschmann C., Lichtenthaler H.K. (1998) Principles and characteristics of multi-colour fluorescence imaging of plants. *Journal of Plant Physiology* 152: 297–314.
32. Bussotti F., Agati G., Desotgiu R., Matteini P., Tani C. (2005) Ozone foliar symptoms in woody plant species assessed with ultrastructural and fluorescence analysis. *New Phytologist* 166: 941–955.
33. Bytnerowicz A., Godzik B., Grodzińska K., Frączek W., Musselman R., Manning W., Badea O., Popescu F., Fleischer P. (2004) Ambient ozone in forests of the Central and Eastern European mountains. *Environmental Pollution* 130: 5–16.
34. Caballero S., Galindo N., Castañer R., Giménez J., Crespo J. (2015) Real-time measurements of ozone and UV radiation during pyrotechnic displays. *Aerosol and Air Quality Research* 15: 2150–2157.
35. Calatayud A., Alvarado J.W., Barreno E. (2002) Differences in ozone sensitivity in three varieties of cabbage (*Brassica oleracea* L.) in the rural Mediterranean area. *Journal of Plant Physiology* 159: 863–868.
36. Casal J.J. (2000) Phytochromes, Cryptochromes, Phototropin: Photoreceptor Interactions in Plants. *Photochemistry and Photobiology* 71(1): 1–11.
37. Casal J.J. (2012) Shade Avoidance. *The Arabidopsis Book*. American Society of Plant Biologist, s. 1–19.
38. Cashmore A.R., Jarillo J.A., Wu Y.-J., Liu D. (1999) Cryptochromes: blue light receptors for plants and animals. *Science* 284: 760–765.
39. Cencora A. (2016) Porównanie wybranych cech fizjologicznych *Hieracium aurantiacum* L. rosnących w obrębie zwartego zasięgu i poza lokalną północną granicą zasięgu. Rozprawa doktorska. Uniwersytet Rzeszowski 1–116.
40. Cerovic Z.G., Masdoumierd G., Ghazlena N.B., Latouche G. (2012) A new optical leaf-clip meter for simultaneous non-destructive assessment of leaf chlorophyll and epidermal flavonoids. *Physiologia Plantarum* 146: 251–260.
41. Chang Y.S., Yu M.R. (2001) Correlation between ozone resistance and relative chlorophyll fluorescence or relative stomatal conductance of bedding plants. *Botanical Bulletin – Academia Sinica Taipei* 42: 265–272.
42. Chappelka A., Skelly J., Somers G., Renfro R., Hildebrand E. (1999) Mature black cherry used as a bioindicator of ozone injury. *Water, Air, and Soil Pollution* 116(1–2): 261–266.
43. Choudhury S., Panda S.K. (2005) Toxic effects, oxidative stress and ultrastructural changes in moss *Axithelium nepalense* (Schwaegr.) Broth. under chromium and lead phytotoxicity. *Water, Air, and Soil Pollution* 167: 73–90.

44. Christianson M.L. (2000) Control of morphogenesis in bryophytes. [W:] Shaw A.J., Goffinet B. (red) *Bryophyte Biology* Cambridge University Press, Cambridge, UK., s. 199–224.
45. Clymo R.S. (1998) *Sphagnum*, the peatland carbon economy, and climate change. [W:] Bates J.W., Ashton N.W., Duckett J.G. (red) *Bryology for the Twenty-first Century: The Centenary Symposium of the British Bryological Society*. Leeda, UK: Maney Publishing, s. 361–368.
46. Cove D.J., Knight C.D., Lamparter T. (1997) Mosses as model systems. *Trends Plant Science* 2: 99–105.
47. Criddle R.S., Breidenbach R.W., Hansen L.D. (1991a) Plant calorimetry: how to quantitatively compare apples and oranges. *Thermochimica Acta* 193: 67–90.
48. Criddle R.S., Fontana A.J., Rank D.R., Paige D., Hansen L.D., Breidenbach R.W. (1991b) Simultaneous measurement of metabolic heat rate, CO₂ production and O₂ consumption by microcalorimetry. *Analytical Biochemistry* 194: 413–417.
49. Criddle R.S., Hansen L.D. (1999) Calorimetric methods for analysis of plant metabolism. [W:] Kemp R.B. (red) *Handbook of thermal analysis and calorimetry*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, s. 711–763.
50. Dai Y., Shen Z., Liu Y., Wang L., Hannaway D., Lu H. (2009) Effects of shade treatments on the photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg. *Environmental and Experimental Botany* 65: 177–182.
51. D'Ambrosio N., Szabo K., Lichtenthaler H.K. (1992) Increase of the chlorophyll fluorescence ratio F685/F735 during the autumnal chlorophyll breakdown. *Radiation and Environmental Biophysics* 31: 51–62.
52. Davies E.C., Chow W.S., Le Fay J.M., Jordan B.R. (1986) Acclimation of tomato leaves to changes in light intensity; effects on the function of the thylakoid membrane. *Journal of Experimental Botany* 37: 211–220.
53. Demarsy E., Fankhauser Ch. (2009) Higher plants use LOV to perceive blue light. *Current Opinion in Plant Biology* 12: 69–74.
54. Demidchik V., Shabala S.N., Coutts K.B., Tester M.A., Davies J.M. (2003) Free oxygen radicals regulate plasma membrane Ca²⁺ and K⁺ permeable channels in plant root cells. *Journal of Cell Science* 116: 81–88.
55. Demidchik V., Cuin T.A., Svistunenko D. (2010) *Arabidopsis* root K⁺ efflux conductance activated by hydroxyl radicals: single-channel properties, genetic basis and involvement in stress-induced cell death. *Journal of Cell Science* 123: 1468–1479.
56. Demidchik V., Straltsova D., Medvedev S.S., Pozhvanov G.A., Sokolik A., Yurin V. (2014) Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany* 65(5): 1259–1270.

-
57. Demmig-Adams B., Adams W.W. (1996) Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta* 198: 460–470.
 58. Desotgiu R., Pollastrini M., Cascio C., Gerosa G., Marzuoli R., Bussotti F. (2012) Chlorophyll *a* fluorescence analysis along a vertical gradient of the crown in a poplar (Oxford clone) subjected to ozone and water stress. *Tree Physiology* 32: 976–986.
 59. Dexter S.T., Tottingham W.E., Graber L.F. (1932) Investigation of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiology* 7: 63–78.
 60. Drogoudi P.D., Ashmore M.R. (2002) Effects of elevated ozone on yield and carbon allocation in strawberry cultivars differing in developmental stage. *Phyton – Annales Rei Botanicae* 42: 45–53.
 61. Edelstein M., Bradford K.J., Burger D.W. (2001) Metabolic heat and CO₂ production rates during germination of melon (*Cucumis melo* L.) seeds measured by microcalorimetry. *Seed Science Research* 11: 265–272.
 62. Endler J.A. (1993) The color of light in forests and its implications. *Ecological Monograph* 63: 1–27.
 63. Ermolayeva E., Hohmeyer H., Johannes E., Sanders D. (1996) Calcium-dependent membrane depolarization activated by phytochrome in the moss *Physcomitrella patens*. *Planta* 199: 352–358.
 64. Farage P.K. (1996) The effect of ozone fumigation over one season on the photosynthetic processes of *Quercus robur* seedlings. *New Phytologist* 134: 279–285.
 65. Farage P.K., Long S.P. (1999) The effects of O₃ fumigation during leaf development on photosynthesis of wheat and pea: an in vivo analysis. *Photosynthesis Research* 59: 1–7.
 66. Feild T.S., Nedbal L., Ort D.R. (1998) Nonphotochemical reduction of the plastoquinone pool in sunflower leaves originates from chlororespiration. *Plant Physiology* 116: 1209–1218.
 67. Felzer B.S., Cronin T., Reilly J.M., Melillo J.M., Wang X. (2007) Impacts of ozone on trees and crops. *External Geophysics, Climate and Environment (Climate)* 339: 784–798.
 68. Feng Z., Wang S., Szantoi Z., Chen S., Wang X. (2010) Protection of plants from ambient ozone by applications of ethylenediurea (EDU): a meta-analytic review. *Environmental Pollution* 158: 3236–3242.
 69. Feng Z., Sun J., Wan W., Hu E., Calatayud V. (2014) Evidence of widespread ozone – induced visible injury on plants in Beijing, China. *Environmental Pollution* 193: 296–301.
 70. Fiscus E.L., Booker F.L., Burkey K.O. (2005) Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning. *Plant, Cell and Environment* 28: 997–1011.
 71. Fodor J., Harrach B.D., Janeczko A., Barna B., Skoczowski A. (2007) Metabolic responses of tobacco to induction of systemic acquired resistance. *Thermochimica Acta* 466: 29–34.

-
72. FORCE-A (2011) Dualex® 4 Flavonols & Chlorophyll-meter. Instruction Manual. FORCE-A, Orsay.
 73. Fowler D., Cape J.N., Coyle M., Flechard C., Kuylenstierna J., Hicks K., Derwent D., Johnson C., Stevenson D. (1999) The global exposure of forests to air pollutants. *Water, Air and Soil Pollution* 116: 5–32.
 74. Fracheboud Y. (2000) Using chlorophyll fluorescence to study photosynthesis. <http://www.ab.ipw.agrl.ethz.ch/~yfracheb/flex.htm>
 75. Franklin K.A., Whitelam G.C. (2005) Phytochromes and shade-avoidance responses in plants. *Annals of Botany* 96: 169–175.
 76. Franklin K.A., Quail P. (2010) Phytochrome functions in *Arabidopsis* development. *Journal of Experimental Botany* 61(1): 11–24.
 77. Franzaring J., Tonneijck A.E.G., Kooijman A.W.N., Dueck T.A. (2000) Growth responses to ozone in plant species from wetlands. *Environmental and Experimental Botany* 44: 39–48.
 78. Fredericksen T.S., Kolb T.E., Skelly J.M., Steiner K.C., Joyce B.J., Savage J.E. (1996) Light environment alters ozone uptake per net photosynthetic rate in black cherry trees. *Tree Physiology* 16: 485–490.
 79. Gagnon Z.E., Karnosky D.F. (1992) Physiological response of here species of *Sphagnum* to ozone exposure. *Journal of Briology* 17: 81–91.
 80. Garstka M. (2007) Structural background of photosynthetic light reactions. *Postępy Biologii Komórki* 34(3): 445–476.
 81. Gawrońska K., Gołębiowska-Pikania G. (2015) The effects of cold-hardening and *Microdochium nivale* infection on oxidative stress and antioxidative protection of the two contrasting genotypes of winter triticale. *European Food Research and Technology*, DOI 10.1007/s00217-015-2630-8.
 82. Gehrke C. (1998) Effects of enhanced UV-B radiation on production-related properties of a *Sphagnum fuscum* dominated subarctic bog. *Functional Ecology* 12: 940–947.
 83. Gehrke C. (1999) Impacts of enhanced ultraviolet-B radiation on mosses in a subarctic heath ecosystem. *Ecology* 80: 1844–1851.
 84. Geiger H., Seeger T., Zinsmeister H.D., Frahm J.P. (1997) The occurrence of flavonoids in arthodontous mosses-an account of present knowledge. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 83: 273–308.
 85. Geiger H., Anhut S., Zinsmeister H.D. (1998) Biflavones from some mosses. *Zeitschrift für Naturforsch* 48C: 1–4.
 86. Genty B., Briantais J.-M., Baker N.R. (1989) The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990: 87–92.

87. Gerotto C., Alboresi A., Giacometti G.M., Bassi R., Morosinotto T. (2012) Coexistence of plant and algal energy dissipation mechanisms in the moss *Physcomitrella patens*. *New Phytologist* 196: 763–773.
88. Gitelson A., Buschmann C., Lihtentahler H.K. (1998) Leaf chlorophyll fluorescence corrected for re-absorption by means of absorption and reflectance measurements. *Journal of Plant Physiology* 152: 283–296.
89. Godzik B., Grodzińska K. (2002) Ozon w przygrunтовой warstwie troposfery i jego wpływ na rośliny polskich parków narodowych. *Kosmos – Problemy nauk biologicznych* 51(4): 427–434.
90. Goldstein R., Ferson S. (1994) Responses of plants to interacting stresses (ROPIS); program rationale, design and implications. *Journal Environmental Quality* 407–411.
91. Gomez-Garay A., Calderon G.C., Saiz de Omeñaca J.A., Manzanera J. (2013) A ozone effects on forests. *African Journal of Biotechnology* 12(4): 320–326.
92. Green T.G.A., Lange O.L. (1994) Photosynthesis in poikilohydric plants: A comparison of lichens and bryophytes. [W:] Schulze E.-D., Caldwell M.M. (red) *Ecological Studies: Ecophysiology of Photosynthesis*, Springer-Verlag, Berlin, 100: 319–342.
93. Green T.G.A. (1998) An assessment of the relationship between chlorophyll *a* fluorescence and CO₂ gas exchange from field measurements on a moss and lichen. *Planta* 206(4): 611–618.
94. Guidi L., Degl'Innocenti E., Soldatini G.F. (2002) Assimilation of CO₂, enzyme activation and photosynthetic electron transport in bean leaves, as affected by high light and ozone. *New Phytologist* 156: 377–388.
95. Guidi L., Mori S., Degl'Innocenti E., Pecchia S. (2007) Effects of ozone exposure or fungal pathogen on white lupin leaves as determined by imaging of chlorophyll *a* fluorescence. *Plant Physiology and Biochemistry* 45(10-11): 851–857.
96. Gulmon S.L., Mooney H.A. (1986) Costs of defense and their effects of plant productivity. [W:] Givnish (red) *On the Economy of Plant Form and Function*. Cambridge University Press, Cambridge, s. 681–698.
97. Guo H., Duong H., Ma N., Lin C. (1999) The *Arabidopsis* blue light receptor cryptochrome 2 is a nuclear protein regulated by a blue-light dependent post-transcriptional mechanism. *The Plant Journal* 19: 279–287.
98. Hájek T., Beckett R.P. (2008) Effect of water content components on desiccation and recovery in *Sphagnum* mosses. *Annals of Botany* 101: 165–173.
99. Hájek T., Vicherová E. (2014) Desiccation tolerance of *Sphagnum* revisited: a puzzle resolved. *Plant Biology* 16: 765–773.
100. Hamilton J.G., Zangerl A.R., DeLucia E.H., Berenbaum M.R. (2001) The carbon-nutrient balance hypothesis: its rise and fall. *Ecology Letters* 4: 86–95.
101. Hansatech Instruments (2008) Chlorophyll fluorescence [Instrukcja szkoleniowa]. Hansatech Instruments Ltd., King's Lynn, Norfolk, England.

-
102. Hansen L.D., Hopkin M.S., Criddle R.S. (1997) Plant calorimetry: A window to plant physiology and ecology. *Thermochimica Acta* 300: 183–197.
 103. Harborne J.B. (2000) Arsenal for survival: secondary plant products. *Taxon* 49: 435–449.
 104. Havaux M. (1993) Rapid photosynthetic adaptation to heat stress triggered in potato leaves by moderately elevated temperatures. *Plant, Cell and Environment* 16: 461–467.
 105. Havsteen B. (1983) Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology* 32: 1141–1148.
 106. Haywood P.M., Clymo R.S. (1983) The growth of *Sphagnum*: experiments on and simulation of some effects of light flux and water-table depth. *Journal of Ecology* 71: 845–863.
 107. Heath R.L. (1994) Possible mechanisms for the inhibition of photosynthesis by ozone. *Photosynthesis Research* 39: 439–451.
 108. Heber U., Bukhov N.G., Shuvalov V.A., Kobayashi Y., Lange O.L. (2001) Protection of the photosynthetic apparatus against damage by excessive illumination in homoiohydric leaves and poikilohydric mosses and lichens. *Journal of Experimental Botany, Plants under Stress Special Issue* 52(363): 1999–2006.
 109. Heber U., Bilger W., Shuvalov V.A. (2006) Thermal energy dissipation in reaction centres and in the antenna of photosystem II protects desiccated poikilohydric mosses against photo-oxidation. *Journal of Experimental Botany* 57(12): 2993–3006.
 110. Hetmann A., Kowalczyk S. (2011) Potranslacyjne modyfikacje czynników transkrypcyjnych PIF/PIL jako efekt rozkodowywania przez fitochromy sygnałów świetlnych. *Postępy Biologii Komórki* 38(1): 49–46.
 111. Hideg E., Juhasz M., Bornman J.F., Asada K. (2002) The distribution and possible origin of blue-green fluorescence in control and stressed barley leaves. *Photochemical and Photobiological Sciences* 1: 934–941.
 112. Hogewoning S.W., Trouwborst G., Maljaars H., Poorter H., van Ieperen W., Harbinson J. (2010) Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *Journal of Experimental Botany* 61: 3107–3117.
 113. Horton P., Ruban A.V., Walters R.G. (1996) Regulation of light harvesting in green plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47: 655–684.
 114. Igamberdiev A.U., Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Popov V.N. (2014) Phytochrome-mediated regulation of plant respiration and photorespiration. *Plant, Cell and Environment* 37(2): 290–299.
 115. Imaizumi T., Kadota A., Hasebe M., Wada M. (2002) Cryptochrome light signals control development to suppress auxin sensitivity in the moss *Physcomitrella patens*. *The Plant Cell* 14: 373–386.
 116. Jackson M.B., Black C.R. (1993) Interacting stresses on plants in a changing climate. Berlin, Springer-Verlag, s. 123–134.

117. Janeczko A., Biesaga-Kościelniak J., Skoczowski A., Marcińska I. (2007a) Differentiation of wheat cell suspension cultured in cold – impact of zearalenone and 24-epibrassinolide. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 523: 127–136.
118. Janeczko A., Tóbiás I., Skoczowski A., Dubert F., Gullner G., Barna B. (2007b) Bacterial infection and pretreatment with 24-epibrassinolide markedly affect the heat emission and membrane permeability of rape cotyledons. *Thermochimica Acta* 458: 88–91.
119. Jena S., Acharya S., Mohapatra P.K. (2012) Variation in effects of four OP insecticides on photosynthetic pigment fluorescence of *Chlorella vulgaris* Beij. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80: 111–117.
120. Jodłowska S., Śliwińska S. (2014) Effects of light intensity and temperature on the photosynthetic irradiance response curves and chlorophyll fluorescence in three picocyanobacterial strains of *Synechococcus*. *Photosynthetica* 52(2): 223–232.
121. Johanson U., Gehrke C., Björn L.O., Callaghan T.V., Sonesson M. (1995) The effects of enhanced UV-B radiation on a subarctic heath ecosystem. *Ambio* 24(2): 106–111.
122. Kacperska A. (2012) Reakcje roślin na stresowe czynniki środowiska [W:] Kopcewicz J., Lewak S. (red) *Fizjologia roślin*. Wydawnictwo PWN, Warszawa, s. 635–643.
123. Kadota A., Sato Y., Wada M. (2000) Intracellular chloroplast photorelocation in the moss *Physcomitrella patens* is mediated by phytochrome as well as by a blue-light receptor. *Planta* 10(6): 932–937.
124. Kagawa T., Lamparter T., Hartmann E., Wada M. (1997) Phytochrome-mediated branch formation in protonemata on the moss *Ceratodon purpureus*. *Journal of Plant Research* 110: 363–370.
125. Kalaji M.H., Wołejko E., Łoboda T., Pietkiewicz S., Wyszyński Z. (2004) Fluorescencja chlorofilu – nowe narzędzie do oceny fotosyntezy roślin jęczmienia, rosnących przy różnych dawkach azotu. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 496: 375–383.
126. Kalaji M.H., Łoboda T. (2010) Fluorescencja chlorofilu w badaniach stanu fizjologicznego roślin. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
127. Kalaji H.M., Carpentier R., Allakhverdiev S.I., Bosa K. (2012) Fluorescence parameters as early indicators of light stress in barley. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 112: 1–6.
128. Kälviäinen E., Karunen P., Ekman R. (1985) Age-related contents of polymerized lipids in the ectohydric forest mosses *Pleurozium schreberi* and *Hylocomnium splendens*. *Physiologia Plantarum* 65(3): 269–274.
129. Karnosky D.F., Skelly J.M., Percy K.E., Chappelka A.H. (2006) Perspectives regarding 50 years of research on effects of tropospheric ozone air pollution on US forests. *Environmental Pollution* 147: 489–506.
130. Kasahara M., Kagawa T., Sato Y., Kiyosue T., Wada M. (2004) Phototropins mediate blue and red light-induced chloroplast movements in *Physcomitrella patens*. *Plant Physiology* 135(3): 1388–1397.

131. Kautsky H., Hirsch A. (1931) Neue Versuche zur Kohlensäure-assimilation. *Naturwissenschaften* 19: 964.
132. Kay Ch.W.M., Schleicher E., Kuppig A., Hofner H., Rudiger W., Schleicher M., Fischer M., Bacher A., Weber S., Richter G. (2003) Blue light perception in plants. *The Journal of Biological Chemistry* 278: 10973–10982.
133. Keller M.M., Jaillais Y., Pedmale U.V., Moreno J.E., Chory J., Ballaré C.L. (2011) Cryptochrome 1 and phytochrome B control shade-avoidance responses in *Arabidopsis* via partially independent hormonal cascades. *The Plant Journal* 67: 195–207.
134. Kershaw K.A., Webber M.R. (1986) Seasonal changes in the chlorophyll content and quantum efficiency of the moss *Brachythecium rutabulum*. *Journal of Briology* 14(1): 151–158.
135. Kirchoff H. (2014) Structural changes of the thylakoid membrane network induced by high light stress in plant chloroplasts. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 369(1640): 2013–2025.
136. Konwencja Biologicznej Bioróżnorodności, – UNEP/CBD/SBSTTA/18/INF/17 23 May 2014.
137. Kopcewicz J., Tretyn A., Cymerski A. (1992) *Fitochrom i morfogeneza roślin*. Wydawnictwo PWN Warszawa.
138. Kopcewicz J. (2012) *Podstawy biologii roślin*. Wydawnictwo PWN, Warszawa, s. 267–272.
139. Kozłowska M. (2007) *Fizjologia roślin – od teorii do nauk stosowanych*. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Poznań s.100–107; 449–459.
140. Krupa J. (1974) *Struktura anatomiczna liści mchów a ich aktywność fizjologiczna*. Wydawnictwo WSP, Kraków, s. 5–58.
141. Krupa J. (1984) *Strukturalno-funkcjonalna adaptacja mchów do lądowych warunków życia*. *Wiadomości Botaniczne* (28): 53–66.
142. Krupa J., Rzepka A. (1995) Responses of moss gametophores to elevate concentration of CO₂. *Biological Bulletin of Poznań* 32: 71.
143. Kuckenber J., Tartachnyk I., Noga G. (2009) Temporal and spatial changes of chlorophyll fluorescence as a basis for early and precise detection of leaf rust and powdery mildew infections in wheat leaves. *Precision Agriculture* 10: 34–44.
144. Kula M., Troć M., Mozdzeń K., Skoczowski A. (2014) Metabolic activity, the chemical composition of biomass and photosynthetic activity of *Chlorella vulgaris* under different light spectra in photobioreactors. *Engineering in Life Sciences* 14: 57–67.
145. Kula M., Rys M., Saja D., Tys J., Skoczowski A. (2016) Far red-dependent changes in the chemical composition of *Spirulina platensis*. *Engineering in Life Sciences*, DOI: 10.1002/elsc.201500173.
146. Kupidłowska E., Gniazdowska A., Stępień J., Corbineau F., Vinci D., Skoczowski A., Janeczko A., Bogatek R. (2006) Impact of sunflower (*Helianthus annuus* L.) extracts upon

- reserve mobilization and energy metabolism in germinating mustard (*Sinapis alba* L.) seeds. *Journal of Chemical Ecology* 32: 2569–2583.
147. Kurpius M.R., McKay M., Goldstein A.H. (2002) Annual ozone deposition to a Sierra Nevada ponderosa pine plantation. *Atmospheric Environment* 36: 4503–4515.
148. Kusior M., Krośniak M., Chłopiczka J., Zagrodzki J. (2012) Wpływ światła o różnej długości fal na rozwój roślin i wybrane parametry biochemiczne na przykładzie rzeżuchy (*Lepidium sativum*) i gorzycy (*Sinapis alba*). *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna XLV(3)*: 717–721.
149. Kwak M.J., Lee S.H., Woo S.Y. (2011) Physiological and biochemical traits of different water and light intensities on cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology* 10(68): 15305–15319.
150. Laemmli U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680–685.
151. Lang M., Stober F., Lichtenthaler H.K. (1991) Fluorescence emission spectra of plant leaves and plant constituents. *Radiation and Environmental Biophysics* 30: 333–347.
152. Langebartels C., Wohlgemuth H., Kschieschan S., Grün S., Sandermann H. (2002) Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 567–575.
153. Lappalainen L.M., Huttunen S., Suokanerva H. (2008) Acclimation of a pleurocarpous moss *Pleurozium schreberi* (Britt.) Mitt. to enhanced ultraviolet radiation in situ. *Global Change Biology* 14: 321–333.
154. Larcher W., Biederman-Thorson M.A. (1983). *Physiological plant ecology*. 2nd. Berlin; New York, Springer-Verlag.
155. Lee B., Zhu J.K. (2010) Phenotypic analysis of *Arabidopsis* mutants: electrolyte leakage after freezing stress. *Cold Spring Harbour Protocols*, DOI:10.1101/pdb.prot4970.
156. Levitt J. (1980) *Responses of plants on environmental stresses*. Academia Press, New York.
157. Lewak S. i Kopcewicz J. (2009) *Fizjologia roślin – wprowadzenie*. Wydawnictwo PWN, Warszawa, s.173–184.
158. Li C.-H., Wang T.-Z., Li Y., Zheng Y.-H., Jiang G.-M. (2013) Flixweed is more competitive than winter wheat under ozone pollution: evidences from membrane lipid peroxidation, antioxidant enzymes and biomass. *Plos One* 8(3): e60109.
159. Lichtenthaler H.K., Rinderle U. (1988) The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 19: 29–85.
160. Lichtenthaler H.K., Hak R., Rinderle U. (1990) The chlorophyll fluorescence ratio F690/F730 in leaves of different chlorophyll content. *Photosynthesis Research* 25: 295–298.

-
161. Lichtenthaler H.K. (1996) Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of Plant Physiology* 148: 4–14.
 162. Lichtenthaler H.K., Burkart S. (1996) Photosynthesis and high light stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 25(3–4): 3–16.
 163. Lichtenthaler H.K., Schweiger J. (1998) Cell wall bound ferulic acid, the major substance of the blue-green fluorescence emission of plants. *Journal of Plant Physiology* 152: 272–282.
 164. Lichtenthaler H.K., Wenzel O., Buschmann C., Gitelson A. (1998) Plant stress detection by reflectance and fluorescence *Annals of the New York Academy of Sciences* 851: 271–285.
 165. Lichtenthaler H.K., Babani F., Langsdorf G., Buschmann C. (2000) Measurement of differences in red chlorophyll fluorescence and photosynthetic activity between sun and shade leaves by fluorescence imaging. *Photosynthetica* 38: 521–529.
 166. Lichtenthaler H.K., Babani F. (2004) Light adaptation and senescence of the photosynthetic apparatus. Changes in pigment composition, chlorophyll fluorescence parameters and photosynthetic activity. [W:] Papageorgiou G.C., Govindjee (red) *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis*. Springer, s.713–736.
 167. Lichtenthaler H.K., Buschmann C., Knapp M. (2004a) Measurement of chlorophyll fluorescence kinetics (Kautsky effect) and the chlorophyll fluorescence decrease ratio (RFd-values) with the PAM-Fluorometer. [W:] Filek N., Biesaga-Kościelniak J., Marcińska I. (red) *Analytical Methods in Plant Stress Biology*. The Franciszek Gorski Institute of Plant Physiology of the Polish Academy of Sciences, Krakau, s. 93–111.
 168. Lichtenthaler H.K., Knapp M., Buschmann C. (2004b) Recording chlorophyll fluorescence emission spectra with the Perkin Elmer fluorescence spectrometer LS 50. [W:] Filek N., Biesaga-Kościelniak J., Marcińska I. (red) *Analytical Methods in Plant Stress Biology*, The Franciszek Gorski Institute of Plant Physiology of the Polish Academy of Sciences, Krakau, s. 112–124.
 169. Lichtenthaler H.K., Buschmann C., Knapp M. (2005) How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio RFd of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica* 43(3): 379–393.
 170. Lichtenthaler H.K., Babani F., Langsdorf G. (2007) Chlorophyll fluorescence imaging of photosynthetic activity in sun and shade leaves of trees. *Photosynthesis Research* 93: 235–244.
 171. Lin C. (2000) Plant blue-light receptors. *Trends in Plant Science* 5(8): 337–342.
 172. Liu W. (2012) Light environmental management for artificial protected horticulture. *Agrotechnology* 1: 1–4.
 173. Loseva N., Gordon L., Alyabyev A., Andreyeva I., Kolesnikova O., Chernov V., Ponomareva A., Kemp R.B. (2004) Effect of induced changes in membrane permeability on the defence response of *Chlorella vulgaris* to infection by *Acholeplasma laidlawii*. *Thermochimica Acta* 422: 95–100.

-
174. Maffei M.E., Mithofer A., Boland W. (2007) Before gene expression: early events in plant-insect interaction. *Trends in Plant Sciences* 12: 310–316.
175. Makles Z., Galwas-Zakrzewska M. (2004) Ozon – bezpieczeństwo ludzi i środowiska. *Bezpieczeństwo Pracy: nauka i praktyka*. Wydawnictwo Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy 6: 25–28.
176. Manning W.J. (2005) Establishing a cause and effect relationship for ambient ozone exposure and tree growth in the forest: progress and an experimental approach. *Environmental Pollution* 137: 443–454.
177. Mari Aro E., Valanne N. (1979) Effect of continuous light on CO₂ fixation and chloroplast structure of the mosses *Pleurozium shreberi* and *Ceratodon purpureus*. *Physiologia Plantarum* 45(4): 460–466.
178. Marschall M., Proctor M.C.F. (2004) Are bryophytes shade plants? Photosynthetic light responses and proportions of chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total carotenoids. *Annals of Botany* 94: 593–603.
179. Marschner H., Handley R., Overstreet R. (1966) Potassium loss and changes in the fine structure of corn root tips induced by H-ion. *Plant Physiology* 41: 1725–1735.
180. Martin C.E., Adamson V.J. (2001) Photosynthetic capacity of mosses relative to vascular plants. *Journal of Bryology* 23(4): 319–323.
181. Mas P., Devlin P.F., Panda S., Kay S.A. (2000) Functional interaction of phytochrome B and cryptochrome2. *Nature* 408: 207–211.
182. Massacci S.M., Nabiev L., Pietrosanti S.K., Nematov T.N., Chernikova Thor K., Leipner J. (2008) Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology and Biochemistry* 46: 189–195.
183. Matysiak R., Lorenc-Plucińska G. (2000) The xanthophyll cycle under abiotic stress. *Postępy Biologii Komórki* 27(1): 17–29.
184. Maxwell K., Johnson G.N. (2000) Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659–668.
185. McCarter C.P.R., Price J.S. (2014) Ecohydrology of *Sphagnum* moss hummocks: mechanisms of capitula water supply and simulated effects of evaporation. *Ecohydrology* 7: 33–44.
186. McKersie B.D., Leshem Y.Y. (1994) *Stress and stress coping in cultivated plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London.
187. Mickiewicz J., Sobótka D. (1973) *Zarys briologii*. Wydawnictwo PWN, Warszawa, s. 33–35.
188. Mills G., Hayes F., Simpson D., Emberson L., Norris D., Harmens H., Büker H. (2011) Evidence of widespread effects of ozone on crops and (semi-)natural vegetation in Europe (1990–2006) in relation to AOT40 and flux-based risk maps. *Global Change Biology* 17: 592–613.
-

-
189. Mittmann F., Brucker G., Zeidler M., Repp A., Abts T., Hartmann E., Hughes J. (2004) Targeted knockout in *Physcomitrella* reveals direct actions of phytochrome in the cytoplasm. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 101: 13939–13944.
 190. Miyata K.H., Nakaji M., Raj Kanel D., Terashima I. (2015) Rate constants of PSII photoinhibition and its repair, and PSII fluorescence parameters in the field plants in relation to their growth light environments. *Plant and Cell Physiology* 56(9): 1841–1854.
 191. Mohammed G.H., Binder W.D., Gillies S.L. (1995) Chlorophyll fluorescence: A review of its practical forestry applications and instrumentation. *Scandinavian Journal of Forest Research* 10: 383–410.
 192. Momen B., Anderson P.D., Helms J.A. (2001) Application of response surface methodology and ANOVA to detect pollution effects on photosynthetic response under varying temperature and light regimes. *Forest Ecology and Management* 152(1–3): 331.
 193. Morgan P.B., Mies T.A., Bollero G.A., Nelson R.L., Long S.P. (2006) Season-long elevation of ozone concentration to projected 2050 levels under fully open-air conditions substantially decreases the growth and production of soybean. *New Phytologist* 170: 333–343.
 194. Mozdzeń K., Skoczowski A. (2015) Impact of temperature on the metabolic activity *Mnium undulatum* and *Polytrichum commune* during dehydration and rehydration. 10th International Conference (Plant functioning under environmental stress) September 16-19, 2015, Cracow, Poland. *Acta Physiologia Plantarum* 38(1): 46.
 195. Mues R. (2000) Chemical constituents and biochemistry. [W:] Shaw J., Goffinet B. (red) *Bryophyte biology*. Cambridge University Press, s. 150–181.
 196. Musselman R.C., Minnick T.J. (2000) Nocturnal stomatal conductance and ambient air quality standards for ozone. *Atmospheric Environment* 34: 719–733.
 197. Musselman R.C., Lefohn A.S., Massman W.J., Heath R.L. (2006) A critical review and analysis of the use of exposure and flux-based ozone indices for predicting vegetation effects. *Atmospheric Environment* 40: 1869–1888.
 198. Nassery H. (1972) The loss of potassium and sodium from excised barley and bean roots. *New Phytologist* 71: 269–274.
 199. Nezami A., Soleimani M.R., Ziaee M., Ghodsi M., Bannayanaval M. (2010) Evaluation of freezing tolerance of hexaploid *Triticale* genotypes under controlled conditions. *Notulae Scientia Biologicae* 2(2): 114–120.
 200. Niemi R., Martikainen P.J., Silvola J., Holopainen T. (2002) Ozone effect on *Sphagnum* mosses, carbon dioxide exchange and methane emission in boreal peatland microcosms. *Science of the Total Environment* 289: 1–12.
 201. Niinemets Ü., Monson R.K., Arneth A., Ciccioli P., Kesselmeier J., Kuhn U., Staudt M. (2010) The leaf-level emission factor of volatile isoprenoids: caveats, model algorithms, response shapes and scaling. *Biogeosciences* 7: 1809–1832.
 202. Nouchi I., Ito O., Harazono Y., Kouchi H. (1995) Acceleration of ¹³C-labeled photosynthate partitioning from leaves to panicles in rice exposed to chronic ozone at the reproductive stage. *Environmental Pollution* 88: 253–260.

-
203. Ochyra R., Żarnowiec J., Bednarek-Ochyra H. (2003) Census catalogue of polish mosses. [W:] Mirek Z. (red) Biodiversity of Poland, Institute of Botany Polish, Academy of Sciences, Kraków 3: 1–372.
204. Oguntimehin I., Sakugawa H. (2009) Interactive effects of simultaneous ozone and fluoranthene fumigation on the eco-physiological status of the evergreen conifer, Japanese red pine (*Pinus densiflora* Sieb et. Zucc.). *Ecotoxicology* 18: 100–109.
205. Olszyk D.M., Johnson M.G., Phillips D.L., Seidler R.J., Tingey D.T., Watrud L.S. (2001) Interactive effects of CO₂ and O₃ on a ponderosa pine plant/litter/ soil mesocosm. *Environmental Pollution* 115: 447–462.
206. Oltmans S.J., Lefohn A.S., Harris J.M., Galbally I., Scheel H.E., Bodeker G., Brunke E., Claude H., Tarasick D., Johnson B.J., Simmonds P., Shadwick D., Anlauf K., Havden K., Schmidlin F., Fujimoto T., Akagi K., Meyer C., Nichol S., Davies J., Redondas A., Cuevas E. (2006) Long-term changes in tropospheric ozone. *Atmospheric Environment* 40: 3156–3173.
207. Öpik H., Rolfe S. (2005) The physiology of flowering plants. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 4th Ed., s. 246–269.
208. Osterhaut W.J.V. (1922) Injury, recovery and death in relation to conductivity and permeability. Philadelphia: JB Lippincott.
209. Palta J., Levitt J., Stadelmann E.J. (1977) Freezing injury in onion bulb cells: I. Evaluation of the conductivity method and analysis of ion and sugar efflux. *Plant Physiology* 60: 393–397.
210. Panda S.K. (2008) Impact of copper on reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidants in *Lemna minor*. *Biologia Plantarum* 52(3): 561–564.
211. Percy R.W., Sims D.A. (1994) Photosynthetic acclimation to changing light environments: scaling from the leaf to the whole plant. [W:] Caldwell M.M., Percy R.W. (red) Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants Academic Press, San Diego, s. 145–174.
212. Pell E.J., Sinn J.P., Brendley B.W., Samuelson L., Vinten-Johansen C., Tien M., Skillman J. (1999) Differential response of four tree species to ozone-induced acceleration of foliar senescence. *Plant, Cell and Environment* 22: 779–790.
213. Peterson R.L., Bosley A., Rebbeck J. (1999) Ozone stimulates protonemal growth and gametophore production in *Polytrichum commune*. *Bryologist* 102: 398–403.
214. Pflieger T.G., Plocher M., Bichel P. (2010) Response of pioneer plant communities to elevated ozone exposure. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 138(1/2): 116–126.
215. Picchi V., Iriti M., Quaroni S., Saracchi M., Viola P., Faoro F. (2010) Climate variations and phenological stages modulate ozone damages in field-grown wheat. A three-year study with eight modern cultivars in Po Valley (Northern Italy). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 135: 310–317.
216. Pilarski J., Tokarz K., Kocurek M. (2012) Adaptacja roślin do składu spektralnego i intensywności promieniowania. *Prace Instytutu Elektrotechniki* 256: 223–236.

-
217. Płażek A., Rapacz M. (2000) The intensity of respiration and heat emission from seedlings of *Festuca pratensis* (Hud.) and *Hordeum vulgare* L. during pathogenesis caused by *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. *Acta Physiologia Plantarum* 22: 25–30.
218. Płażek A., Rapacz M., Skoczowski A. (2000) Effects of ozone fumigation on photosynthesis and membrane permeability in leaves of spring barley, meadow fescue, and winter rape. *Photosynthetica* 38(3): 409–413.
219. Płażek A., Skoczowski A., Hura K., Libik M., Barna B. (2009) Accumulation of H₂O₂ and changes in activities of antioxidative enzymes and b-1,3-glucanase in barley and meadow fescue leaves attacked by *Bipolaris sorokiniana*. *Cereal Research Communications* 37(3): 399–408.
220. Płochocki Z. (2003) *Fizyka dla ogrodników*. Wydawnictwo WSEH.
221. Podbielkowski Z., Rejment-Grochowska I., Skirgiełło A. (1982) *Rośliny zarodnikowe*. Wydawnictwo PWN, Warszawa, s. 550–596.
222. Polakowski B. (1994) *Botanika*. Wydawnictwo PWN, Warszawa, s. 291–295.
223. Porra R.J. (2002) The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. *Photosynthesis Research* 73: 149–156.
224. Potter L., Foot J.P., Caporn M., Lee J.A. (1996) Responses of four *Sphagnum* species to acute ozone fumigation. *Journal of Bryology* 19: 19–32.
225. Prasad S.M., Dwivedi R., Zeeshan M., Singh R. (2004) UV-B and cadmium induced changes in pigments, photosynthetic electron transport activity, antioxidant levels and antioxidative enzyme activities of *Riccia* sp. *Acta Physiologiae Plantarum* 26(4): 423–430.
226. Pressel S., Ligrone R., Duckett J.G. (2006) Effects of de- and rehydration on food-conducting cells in the moss *Polytrichum formosum*: A Cytological Study. *Annals of Botany* 98: 67–76.
227. Proctor M.C.F. (2000a) Mosses and alternative adaptation to life on land. *New Phytologist* 148: 1–6.
228. Proctor M.C.F. (2000b) *Physiological ecology*. [W:] Shaw A.J., Goffinet B. (red) *Bryophyte Biology*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, s. 225–247.
229. Proctor M.C.F., Smirnoff N. (2000) Rapid recovery of photosystems on rewetting desiccation-tolerant mosses: chlorophyll fluorescence and inhibitor experiments. *Journal of Experimental Botany* 51: 1695–1704.
230. Proctor M.C.F., Tuba Z. (2002) Poikilohydry and homoihydry: antithesis or spectrum of possibilities? *New Phytologist* 156: 327–349.
231. Proctor M.C.F. (2003) Comparative ecophysiological measurement on the light response, water relations and desiccation tolerance of the filmy fern *Hymenophyllum wilsonii* Hook. and *H. tunbigense* L. Smith. *Plant Physiology* 91: 717–727.

-
232. Proctor M.C.F. (2005) Why do *Polytrichaceae* have lamellae? *Journal of Bryology* 27: 221–229.
233. Proctor M.C.F., Oliver M.J., Wood A.J., Alpert P., Stark L.R., Cleavitt N.L., Mishler B.D. (2007) Desiccation-tolerance in bryophytes: a review. *The Bryologist* 110(4): 595–621.
234. Proctor M.C.F., Smirnoff N. (2011) Ecophysiology of photosynthesis in bryophytes: major roles for oxygen photoreduction and non-photochemical quenching? *Physiologia Plantarum* 141: 130–140.
235. Rampendahl C., Seeger T., Geiger H., Zinsmeister H.D. (1996) The biflavonoids of *Plagiomnium undulatum*. *Phytochemistry* 41(6): 1621–1624.
236. Randi A.M., Freitas M.C.A., Rodrigues A.C., Maraschin M., Torres M.A. (2014) Acclimation and photoprotection of young gametophytes of *Acrostichum danaeifolium* to UV-B stress. *Photosynthetica* 52(1): 50–56.
237. Rank D.R., Breidenbach R.W., Fontana A.J., Hansen L.D., Cirdle R.S. (1991) Time-temperature response of tomato cells during high-temperature and low-temperature inactivation. *Planta* 185: 576–582.
238. Reich P.B. (1983) Effects of low concentrations of O₃ on net photosynthesis, dark respiration, and chlorophyll contents in aging hybrid poplar leaves. *Plant Physiology* 73: 291–296.
239. Reich P.B., Amundson R.G. (1985) Ambient level of O₃ reduce net photosynthesis in tree and crop species. *Science* 230: 566–670.
240. Reski R. (1997) Development, genetics and molecular biology of mosses. *Botanica Acta* 111: 1–15.
241. Rice S.K., Schuepp P.H. (1995) On the ecological and evolutionary significance of branch and leaf morphology in aquatic *Sphagnum*. *American Journal of Botany* 82: 833–846.
242. Rice S.K. (2000) Variation in carbon dioxide discrimination within and among *Sphagnum* species in a temperate wetland. *Oecologia* 123: 1–8.
243. Rice S.K., Gutman C., Krouglicof N. (2005) Laser scanning reveals bryophyte canopy structure. *New Phytologist* 166: 695–704.
244. Richter P.I., Lichtenthaler H.K. (1996) Concept of application of synthetic optical spectra in photobiological research of plant. *Journal of Plant Physiology* 148: 464–470.
245. Rinnan R., Holopainen T. (2004) Ozone effects on the ultrastructure of peatland plants: *Sphagnum* mosses, *Vaccinium oxycoccus*, *Andromeda polifolia* and *Eriophorum vaginatum*. *Annals of Botany* 94: 623–634.
246. Rintamäki E., Salo R., Lehtonen E., Aro E.M. (1995) Regulation of D1 protein-degradation during photoinhibition of photosystem-II in vivo phosphorylation of the D1 protein in various plant groups. *Planta* 195: 379–386.
247. Roháček K. (2002) Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning and mutual relationships. *Photosynthetica* 40(1): 13–29.

-
248. Rosenqvist E., van Kooten O. (2003) Chlorophyll fluorescence: a general description and nomenclature. [W:] DeEll J.R., Tiovonen P.M.A. (red) Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology. Kluwer Academic Publishers, Boston, s. 31–77.
249. Rösler J., Jaedicke K., Zeidler M. (2010) Cytoplasmic Phytochrome Action. *Plant and Cell Physiology* 51(8): 1248–1254.
250. Rozema J., Björn L.O., Bornman J.F., Gaberscik A., Häder D.P., Trost T., Germ M., Klisch M., Gröniger A., Sinha R.P., Lebert M., He Y.Y., Buffoni-Hall R., de Bakker N.V., van de Staaij J., Meijkamp B.B.. (2002) The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems – an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 66: 2–12.
251. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 r. w sprawie ochrony gatunkowej roślin. *Dziennik Ustaw* z 2014 r. Nr 0, poz. 1409.
252. Rzepka A., Krupa J., Rut G. (2001) The influence of anaerobic conditions on the respiration of moss gametophores in the darkness. *Acta Physiologia Plantarum* 23(3): 90–91.
253. Rzepka A., Krupa J., Ślesak I. (2005) Effect of hypoxia on photosynthetic activity and oxidative response in gametophores of *Mnium undulatum*. *Acta Physiologia Plantarum* 27(2): 205–212.
254. Rzepka A. (2008) Ekofizjologiczne aspekty reakcji różnych gatunków mchów na abiotyczne czynniki stresowe. Praca Monograficzna nr 501. Wydawnictwo AP, Kraków.
255. Saja D. (2013) Fizjologiczne podstawy odporności *Centaurea cyanus* L. na tribenuron metylowy oraz przydatność fizycznych i biochemicznych metod do oceny odporności. Rozprawa doktorska, Uniwersytet Pedagogiczny 1–145.
256. Saja D., Rys M., Stawoska I., Skoczowski A. (2016) Metabolic response of cornflower (*Centaurea cyanus* L.) exposed to tribenuron-methyl- one of active substance of sulfonylurea herbicides. *Acta Physiologiae Plantarum*, DOI: 10.1007/s11738-016-2183-x.
257. Sato Y., Wada M., Kadota A. (2001) Choice of tracks, microtubules and/or actin filaments for chloroplast photo-movement is differentially controlled by phytochrome and a blue light receptor. *Journal of Cell Science* 114: 269–279.
258. Scandalios J.G. (2005) Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 38: 995–1014.
259. Schabes F.I., Sigstad E.E. (2005) Calorimetric studies of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seed germination under saline stress conditions. *Thermochimica Acta* 428: 71–75.
260. Schabes F.I., Sigstad E.E. (2006) Optimizing conditions to study seed germination by calorimetry using soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) seeds. *Thermochimica Acta* 450: 96–101.
261. Schaefer D.G., Zryd J.P. (2001) The moss *Physcomitrella patens*, now and then. *Plant Physiology* 127: 1430–1438.

-
262. Scheidegger C., Schroeter B. (1995) Effects of ozone fumigation on epiphytic macrolichens: ultrastructure, CO₂ gas exchange and chlorophyll fluorescence. *Environmental Pollution* 88: 345–354.
263. Schmieden U., Wild A. (1995) The contribution of ozone to forest decline. *Physiologia Plantarum* 94: 371–378.
264. Schmitz-Hoerner R., Weissenbock G. (2003) Contribution of phenolic compounds to the UV-B screening capacity of developing barley primary leaves in relation to DNA damage and repair under elevated UV-B levels. *Phytochemistry* 64: 243–55.
265. Schraudner M., Moeder W., Wiese C., Van Camp W., Inze D., Lagebartels C., Sandermann H. (1998) Ozone-induced oxidative burst in the ozone biomonitor plant, tobacco Bel W3. *The Plant Journal* 16: 235–245.
266. Schweiger J., Lang M., Lichtenthaler H.K. (1996) Differences in fluorescence excitation spectra of leaves. *Plant Physiology* 148: 536–547.
267. Seel W.E., Hendry G.A.F., Lee J.A. (1992) The combined effects of desiccation and irradiance on mosses from xeric and hydric habitats. *Journal of Experimental Botany* 43: 1023–1030.
268. Seinfeld J.H. (1989) Urban air pollution: state of science. *Science* 243: 745–752.
269. Selye H.H. (1956) *The stress of life*. New York: McGraw-Hill.
270. Selye H.H. (1975) *Stress without distress*. Philadelphia: J. B. Lippincott Co..
271. Shcherbakova A., Kacperska A. (1983) Water stress injuries and tolerance as related to potassium efflux from winter rape hypocotyls. *Physiologia Plantarum* 57: 296–300.
272. Sikora J., Żurawski J., Rutkowska J., Poniedziałek B., Wiktorowicz K., Dudkowiak A. (2009) Influence of heavy metals on *Synechocystis aquatilis* chlorophyll fluorescence. *Ochrona środowiska i zasobów naturalnych* 41: 293–301.
273. Sikora Z., Podwika M. (2011) *Przewodnik turystyczny – szlak lasów miejskich Krakowa*. Fundacja Miejski Park i Ogród Zoologiczny w Krakowie, Dunapol, Kraków – Warszawa, s. 33.
274. Sitch S., Cox P.M., Collins W.J., Huntingford C. (2007) Indirect radiative forcing of climate change through ozone effects on the land-carbon sink. *Nature* 448: 791–794.
275. Skelly J.M., Innes J.L., Savage J.E., Snyder K.R., Vanderheyden D., Zhang J., Sanz M.J. (1999) Observation and confirmation of foliar ozone symptoms of native plant species of Switzerland and southern Spain. *Water, Air, and Soil Pollution* 116: 227–234.
276. Skoczowski A., Pieńkowski S., Niewiadomska E., Miszański Z. (2000) Phytotron chambers for plant exposure to ozone. *Archives of Environmental Protection* 26(2): 129–135.
277. Skoczowski A., Janeczko A., Gullner G., Tóbiás I, Kornas A., Barna B. (2011a) Response of brassinosteroid-treated oilseed rape cotyledons to infection with the wild type and HR-mutant of *Pseudomonas syringae* or with *P. fluorescence*. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 104: 131–139.
-

-
278. Skoczowski A., Troć M., Baran A., Baranska M. (2011b) Impact of sunflower and mustard leave extracts on the growth and dark respiration of mustard seedlings. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 104: 187–192.
279. Skoczowski A., Troć M. (2013) Isothermal calorimetry and raman spectroscopy to study response of plants to abiotic and biotic stresses [W:] Rout G.R., Das A.B. (red) *Molecular stress physiology of plants*. Springer India, s. 263–288.
280. Smith H., Whitelam G.C. (1997) The shade avoidance syndrome: multiple responses mediated by multiple phytochromes. *Plant, Cell and Environment* 20: 840–844.
281. Sonesson M., Callaghan T.V., Carlsson B.A. (1996) Effects of enhanced ultraviolet radiation and carbon dioxide concentration on the moss *Hylocomium splendens*. *Global Change Biology* 2: 67–73.
282. Srivastava A., Strasser R.J. (1996) Stress and stress management of land plants during a regular day. *Journal of Plant Physiology* 148: 445–455.
283. Srivastava A., Strasser R.J. (1997) Constructive and destructive actions of light on the photosynthetic apparatus. *Journal of Scientific and Industrial Research* 56: 133–148.
284. Starck Z., Chołuj D., Niemyska B. (1995) Fizjologiczne reakcje roślin na niekorzystne czynniki środowiska. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
285. Starck Z. (1998) Reakcja roślin na multistresowe warunki środowiska w aspekcie produkcji i dystrybucji masy. [W:] Grzesiak S., Skoczowski A., Miszański Z. (red) *Ecophysiological aspects of plant responses to stress factors*. The Franciszek Górski Polska Akademia Nauk, Kraków, s. 21–31.
286. Starck Z. (2002) Mechanizmy integracji procesów fotosyntezy i dystrybucji biomasy w niekorzystnych warunkach środowiska. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 481: 113–124.
287. Stepień P., Klobus G. (2005) Antioxidant defense in the leaves of C3 and C4 plants under salinity stress. *Physiologia Plantarum* 125: 31–40.
288. Stober F., Lichtenthaler H.K. (1993) Studies on the constancy of the blue and green fluorescence yield during the chlorophyll fluorescence induction kinetics (Kautsky effect). *Radiation and Environmental Biophysics* 32: 357–365.
289. Stokłosa A., Janeczko A., Skoczowski A., Kieć J. (2006) Isothermal calorimetry as a tool for estimating resistance of wild oat (*Avena fatua* L.) to aryloxyphenoxypropionate herbicides. *Thermochimica Acta* 441: 203–206.
290. Stow T.K., Allen H.L., Kress L.W. (1992) Ozone impacts on seasonal foliage dynamics of young loblolly pine. *Forest Science* 38: 102–119.
291. Strasser R.J., Srivastava A., Tsimilli-Michael M. (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples, probing photosynthesis [W:] Yunus M., Pathre U., Mohanty P. (red) *Mechanism, regulation and adaptation*. Taylor and Francis, London, s. 443–480.

-
292. Strzałka K. (1998) Przemiany związków organicznych i energii u roślin – Fotosynteza i chemosynteza [W:] Kopcewicz J., Lewak S. (red) Podstawy fizjologii roślin. Wydawnictwo PWN, Warszawa, s. 262–265.
293. Sulkiwicz M., Ciereszko I. (2016) Fluorescencja chlorofilu *a* – historia odkrycia i zastosowanie w badaniach roślin. *Kosmos – Problemy Nauk Przyrodniczych* 65(1): 103–115.
294. Sun M.M., Jin S., Liu X.L., He Y.K. (2006) Blue light signaling in mosses. *Yi Chuan* 28(6): 754–60.
295. Sun G.E., McLaughlin S.B., Porter J.H., Uddling J., Mulholland P.J., Adams M.B., Pederson N. (2012) Interactive influences of ozone and climate on streamflow of forested watersheds. *Global Change Biology* 18: 3395–3409.
296. Synowiec A., Możdżeń K., Skoczowski A. (2015) Early physiological response of broccoli leaf to foliar application of clove oil and its main constituents. *Industrial Crops and Products* 74: 523–529.
297. Szabó I., Bergantino E., Giacometti G.M. (2005) Light and oxygenic photosynthesis: energy dissipation as a protection, mechanism against photo-oxidation. *EMBO Reports* 6(7): 629–634.
298. Szafran B. (1948) Klucz do oznaczania najpospolitszych mszaków i paprotników. Państwowe Zakłady Wydawnictw Szkolnych, Warszawa, s. 32–33.
299. Szafran B. (1961) Mchy (Musci). Flora Polska. Rośliny zarodnikowe Polski i ziem ościennych. Polska Akademia Nauk, Instytut Botaniki, Wydawnictwo PWN, Warszawa, tom 2: 406.
300. Szafran B. (1963) Flora słodkowodna Polski. Musci–Mchy. Polska Akademia Nauk, Instytut Botaniki, Wydawnictwo PWN, Warszawa, tom 16: 7–19.
301. Szweykowska A. (1997) Fizjologia roślin. Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań.
302. Szweykowska A., Szweykowski J. (2003) Botanika – Systematyka. Wydawnictwo PWN, Warszawa, tom 2: 198–201.
303. Taipale T., Huttunen S. (2002) Moss flavonoids and their ultrastructural localization under enhanced UV-B radiation. *Polar Record* 38(206): 211–218.
304. Tausz M., Grulke N.E., Wieser G. (2006) Defense and avoidance of ozone under global change. *Environmental Pollution* 147: 525–531.
305. Tevini M. (1993) UV-B radiation and ozone depletion. Effects on humans, animals, plant, micro-organisms and materials. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, s. 95–123.
306. Théry M. (2001) Forest light and its influence on habitat selection. *Plant Ecology* 153: 251–261.
307. Thompson D.K., Waddington J.M. (2008) *Sphagnum* under pressure: towards an ecohydrological approach to examining *Sphagnum* productivity. *Ecohydrology* 1: 299–308.

-
308. Thornton L.E., Keren N., Ohad I., Pakrasi H.B. (2005) *Physcomitrella patens* and *Ceratodon purpureus*, mosses as model organisms in photosynthesis studies. *Photosynthesis Research* 83(1): 87–96.
309. Thygerson T., Harris J.M., Smith B.N., Hansen L.D., Pendleton R.L., Booth D.T. (2002) Metabolic response to temperature for six populations of winterfat (*Eurotia lanata*). *Thermochimica Acta* 394: 211–217.
310. Titus J.E., Wagner D.J. (1984) Carbon balance for two *Sphagnum* mosses: water balance resolves a physiological paradox. *Ecology* 65: 1765–1774.
311. Topa M.A., Vanderklein D.W., Corbin A. (2001) Effects of elevated ozone and low light on diurnal and seasonal carbon gain in sugar maple. *Plant, Cell and Environment* 24: 663–677.
312. Torsethaugen G., Pell E.J., Assmann S.M. (1999) Ozone inhibits guard cell K⁺ channels implicated in stomatal opening. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 96: 13577–13582.
313. Tremblay N., Wang Z., Cerovic Z.G. (2012) Sensing crop nitrogen status with fluorescence indicators. A review. *Agronomy Sustainable Development* 32: 451–464.
314. Tretyn A. (1998) Regulacja procesów fizjologicznych przez czynniki środowiskowe [W:] Kopcewicz J., Lewak S. *Podstawy fizjologii roślin*. Wydawnictwo PWN, s.135–144.
315. Tuba Z., Lichtenthaler H.K., Csintalan Z., Pocs T. (1993) Regreening of desiccated leaves of the poikilochlorophyllous *Xerophyta scabrata* upon rehydration. *Journal of Plant Physiology* 142: 103–108.
316. Tuba Z.N., Csintalan Z., Proctors M.C.F. (1996) Photosynthetic responses of a moss, *Tortula ruralis* ssp. *ruralis*, and the lichens *Cladonia convoluta* and *C. furcata* to water deficit and short periods of desiccation, and their ecophysiological significance: a basehne study at present-day concentration. *New Phytologist* 133: 353–361.
317. Tuba Z., Saxena D.K., Srivastav K., Singh S., Czobel S., Kalaji H.M. (2010) Chlorophyll *a* fluorescence measurements for validating the tolerant bryophytes for heavy metal (Pb) biomapping. *Current Science* 98(1): 150–1508.
318. Uenaka H., Wada M., Kadota A. (2005) Four distinct photoreceptors contribute to light-induced side branch formation in the moss *Physcomitrella patens*. *Planta* 222: 623–631.
319. Uenaka H., Kadota A. (2007) Functional analyses of the *Physcomitrella patens* phytochromes in regulating chloroplast avoidance movement. *The Plant Journal* 51: 1050–1061.
320. Utrainen J., Holopainen T. (2000) Impact of increased springtime O₃ exposure on Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings in central Finland. *Environmental Pollution* 109: 479–487.
321. Vahisalu T., Puzorjova I., Brosché M., Valk E., Lepiku M., Moldau H., Pechter P., Wang Y.-S., Lindgren O., Salojarvi J., Loog M., Kangasjarvi J., Kollist H. (2010) Ozone-triggered rapid stomatal response involves the production of reactive oxygen species, and is controlled by SLAC1 and OST1. *The Plant Journal* 62: 442–453.

-
322. Van Camp W., Van Montagu M., Inze D. (1994a) Superoxide dismutases. [W:] Foyer C.H., Mullineaux P.M. (red) Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants. CRC Press, Boca Raton., s. 317–341.
323. Van Camp W., Willekens H., Bowler C., Van Montagu M., Inze D., Reupold-Popp P., Sandermann H., Langebartels C. (1994b) Elevated levels of superoxide dismutase protect transgenic plants against ozone damage. *Nature Biotechnology* 12: 165–168.
324. Van der Hoeven E.C., Huynen C.I.J., During H.J. (1993) Vertical profiles of biomass, light intercepting area and light intensity in chalk grassland mosses. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 74: 261–270.
325. Van der Hoeven E.C., During H.J. (1997) The effect of density on size frequency distributions in chalk grassland bryophyte populations. *Oikos* 80: 533–539.
326. Van der Wal R., Pearce I.S.K., Brooker R.W. (2005) Mosses and the struggle for light in a nitrogen-polluted world. *Oecologia* 42: 159–168.
327. Vingarzan R. (2004) A review of surface ozone background levels and trends. *Atmospheric Environment* 38: 3431–3442.
328. Vockenhuber H. (1995) Ozon – Bomba zegarowa. Wydawnictwo SPAR, Warszawa.
329. Wadsö I. (1995) Microcalorimetric techniques for the investigation of living plants materials. *Thermochimica Acta* 250: 285–304.
330. Wadsö L., Gómez F., Sjöholm I., Rocculi P. (2004) Effect of tissue wounding on the results from calorimetric measurements of vegetable respiration. *Thermochimica Acta* 422: 89–93.
331. Wang X., Lino M. (1998) Interaction of cryptochrome 1, phytochrome, and ion fluxes in blue-light-induced shrinking of *Arabidopsis* hypocotyl protoplast. *Plant Physiology* 117: 1265–1279.
332. Watling J.R., Robinson S.A., Woodrow I.E., Osmond C.B. (1997) Responses of rainforest understorey plants to excess light during sunflecks. *Australian Journal of Plant Physiology* 24: 17–25.
333. Woźny A., Przybył K. (2004) Komórki roślinne w warunkach stresu. Wydawnictwo UAM Poznań, tom I–II.
334. Yamaguchi M., Inada H., Satoh R., Hoshino D., Nagasawa A., Negishi Y., Sasaki H., Nouchi I., Kobayashi K., Izuta T. (2008) Effects of ozone on the growth, yield and leaf gas exchange rates of two Japanese cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agricultural Meteorology* 64: 131–140.
335. Yamashita H., Sato Y., Kanegae T., Kagawa T., Wada M., Kadota A. (2011) Chloroplast actin filaments organize meshwork on the photorelocated chloroplasts in the moss *Physcomitrella patens*. *Planta* 233(2): 357–368.
336. Zhang P.-J., Zheng S.-J., van Loon J.J.A., Boland W., David A., Mumm R., Dicke M. (2009) Whiteflies interfere with indirect plant defense against spider mites in lima bean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 21202–21207.
-

337. Zhang W.W., Niu J.F., Wang X.K., Tian Y., Yao F.F., Feng Z.Z. (2011) Effects of ozone exposure on growth and photosynthesis of the seedlings of *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg, a native tree species of subtropical China. *Photosynthetica* 49(1): 29–36.
338. Zhang T., Folta K.M. (2012) Green light signaling and adaptive response. *Plant Signaling and Behavior* 7: 1–4.
339. Zhang W., Feng Z., Wang X., Niu J. (2014) Impacts of elevated ozone on growth and photosynthesis of *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng. *Plant Science* 226: 182–188.
340. Zienkiewicz A., Tretyn A., Kopcewicz J. (2004) Molekularne i fizjologiczne podstawy funkcjonowania roślinnego zegara okołodobowego. *Postępy Biologii Komórki* 31(3): 607–623.
341. Zinsmeister H.D., Becker H., Eicher T. (1991) *Brophytes*: a source of biologically active, naturally occurring material. *Angewandte Chemie: International Edition English* 30: 130–147.

ŹRÓDŁA INTERNETOWE:

www.bbsfieldguide.org.uk

www.bildatlas-moose.de/

www.force-a.com

www.google.pl

www.psi.cz/

www.statsoft.com

8. SPIS TABEL

Tab. 1. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na długość chwytników, gametoforów i gametofitów u mchów; *Pc* – *Plagiomnium cuspidatum*, *Pf* – *Polytrichastrum formosum*, *Ps* – *Pleurozium schreberi*. Wartości oznaczone różnymi literami (w obrębie jednego wiersza) różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Tab. 2. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na przyrost świeżej i suchej masy oraz uwodnienie gametofitów mchów; *Pc* – *Plagiomnium cuspidatum*, *Pf* – *Polytrichastrum formosum*, *Ps* – *Pleurozium schreberi*. Wartości oznaczone różnymi literami (w obrębie jednego wiersza) różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Tab. 3. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na zawartość Chl *a*, Chl *b* oraz wartość stosunku zawartości Chl *a/b* w gametoforach badanych mchów; *Pc* – *Plagiomnium cuspidatum*, *Pf* – *Polytrichastrum formosum*, *Ps* – *Pleurozium schreberi*. Wartości oznaczone różnymi literami (w obrębie jednego wiersza) różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Tab. 4. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na zawartość chlorofilu (Chl), flawonoidów (Flv) oraz na wartość wskaźnika indeksu azotowego (NBI) w gametoforach mchów *Pc* – *Plagiomnium cuspidatum*; *Pf* – *Polytrichastrum formosum*, *Ps* – *Pleurozium schreberi*. Wartości oznaczone różnymi literami (w obrębie jednego wiersza) różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Tab. 5. Wpływ składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) oraz stresu ozonowego na wartość wybranych współczynników emisji fluorescencji liści *P. cuspidatum* – *Plagiomnium cuspidatum*, *P. formosum* – *Polytrichastrum formosum* oraz *P. schreberi* – *Pleurozium schreberi*. Kolorem czerwonym zaznaczono współczynnik F595/F530 zaproponowany przez autorkę. Pozostałe współczynniki obliczono za Schweigerem i in. [1996]. Wartości oznaczone różnymi literami (w obrębie jednego wiersza) różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Tab. 6. Intensywność fluorescencji fotosystemu II (PSII) i fotosystemu I (PSI) w liściach mchów *P. cuspidatum* – *Plagiomnium cuspidatum*, *P. formosum* – *Polytrichastrum formosum* oraz *P. schreberi* – *Pleurozium schreberi* fumigowanych ozonem w różnych składach spektralnych światła. Intensywność pików fluorescencji anten (A) oraz kory (C) użyto do obliczenia współczynników antena/kora (A/C). Wartość PSI/PSII wyraża stosunek intensywności fluorescencji anten. Współczynniki obliczono za Jena i in. [2012]. Wartości oznaczone różnymi literami (dla danego gatunku mchu) w obrębie tej samej kolumny różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$ według testu Duncana; $n = 10$.

9. SPIS RYCIN

Ryc. 1. Zróżnicowane warunki świetlne w obrębie pojedynczej rośliny [A – fot. A. Skoczowski] oraz w układzie fitocenotycznym [B – źródło: www.google.pl].

Ryc. 2. Wpływ zacienienia na zmiany składu spektralnego światła słonecznego [według Pilarskiego i Skoczowskiego].

Ryc. 3. Pokrój gametofitu i sporofitu *Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) T.J.Kop.; A – gametofit, B – gametofit – morfologia i anatomia liścia oraz sporofit [źródło: www.bildatlas-moose.de/].

Ryc. 4. Pokrój gametofitu i sporofitu *Polytrichastrum formosum* (Hedw.) G.L.Sm.; A – gametofit, B – liście gametofitu z *lamellami* oraz puszka sporofitu [źródło: www.bildatlas-moose.de/].

Ryc. 5. Pokrój gametofitu i sporofitu *Pleurozium schreberi* (Willd. ex Brid.) Mitt.; A – gametofit, B – morfologia liści gametofitu [źródło: <http://www.bildatlas-moose.de/>].

Ryc. 6. Teren zbioru materiału badawczego. Miejsce pobrania zaznaczono strzałką i czarnym kółkiem w górnej części mapy [źródło: Sikora i Podwika, 2011].

Ryc. 7. A – Skład spektralny światła emitowanego przez diody LED w komorze fitotronowej: linia czerwona – RGBL (światło czerwono-zielono-niebieskie), linia biała – WL (światło białe), linia niebieska – WBL (światło biało-niebieskie). B – Widok ogólny na zestaw do fumigacji ozonem z zestawem matryc LED.

Ryc. 8. Zestaw do regulacji stężenia ozonu w komorach fumigacyjnych (A) oraz wytwornica tlenu (B). [Projekt i wykonanie: A. Skoczowski i K. Możdżeń].

Ryc. 9. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na przepuszczalność membran plazmatycznych w komórkach gametoforów *Plagiomnium cuspidatum* (A), *Polytrichastrum formosum* (B), *Pleurozium schreberi* (C). Wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Ryc. 10. Porównanie parametrów fluorescencji Chl *a*, wyrażonych jako procent nefumigowanej kontroli, w gametoforach *P. cuspidatum* – *Plagiomnium cuspidatum*, *P. formosum* – *Polytrichastrum formosum*, *P. schreberi* – *Pleurozium schreberi* rosnących w warunkach stresu ozonowego przy różnych składach spektralnych światła (A – WL, B – RGBL, C – WBL). Gwiazdka nad słupkiem oznacza istotną statystycznie zmianę wartości parametru w stosunku do kontroli przedstawionej jako 100% (linia czerwona).

Ryc. 11. Krzywe emisji specyficznej mocy cieplnej w funkcji czasu dla gametofitów *Plagiomnium cuspidatum* rosnących w warunkach stresu ozonowego (linia przerywana) i w warunkach kontrolnych (linia ciągła), w składach spektralnych światła A – WL, B – RGBL, C – WBL. Linią pionową oznaczono moment zakończenia okresu nocy podczas wzrostu roślin w komorach wegetacyjnych.

Ryc. 12. Krzywe emisji specyficznej mocy cieplnej w funkcji czasu dla gametofitów *Pleurozium schreberi* rosnących w warunkach stresu ozonowego (linia przerywana) i w warunkach kontrolnych (linia ciągła), w składach spektralnych światła A – WL, B – RGBL, C – WBL. Linią pionową oznaczono moment zakończenia okresu nocy podczas wzrostu roślin w komorach vegetacyjnych.

Ryc. 13. Krzywe emisji specyficznej mocy cieplnej w funkcji czasu dla gametofitów *Polytrichastrum formosum* rosnących w warunkach stresu ozonowego (prawa oś „Y” – linia przerywana) i w warunkach kontrolnych (lewa oś „Y” – linia ciągła), w składach spektralnych światła A – WL, B – RGBL, C – WBL. Linią pionową oznaczono moment zakończenia okresu nocy podczas wzrostu roślin w komorach vegetacyjnych.

Ryc. 14. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na wartości całkowitej energii cieplnej [J/g_{śM}] emitowanej przez gametofity mchów; A – *Plagiomnium cuspidatum*, B – *Pleurozium schreberi*, C – *Polytrichastrum formosum*. Wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

Ryc. 15. Widma fluorescencji niebiesko-zielonej (A – C) oraz czerwonej (D – F) liści *Plagiomnium cuspidatum* rosnących w zróżnicowanym składzie spektralnym światła (WL, RGBL, WBL); linia ciągła – kontrola, linia przerywana – warunki stresu ozonowego.

Ryc. 16. Widma fluorescencji niebiesko-zielonej (A – C) oraz czerwonej (D – F) liści *Polytrichastrum formosum* rosnących w zróżnicowanym składzie spektralnym światła (WL, RGBL, WBL); linia ciągła – kontrola, linia przerywana – warunki stresu ozonowego.

Ryc. 17. Widma fluorescencji niebiesko-zielonej (A – C) oraz czerwonej (D – F) liści *Pleurozium schreberi* rosnących w zróżnicowanym składzie spektralnym światła (WL, RGBL, WBL); linia ciągła – kontrola, linia przerywana – warunki stresu ozonowego.

Ryc. 18. Identyfikacja izoform SOD na żelach natywnych (A) oraz obrazy elektroforetyczne izoform SOD w gametoforach *Plagiomnium cuspidatum* poddanych działaniu stresu ozonowego przy różnym składzie spektralnym światła (B).

Ryc. 19. Wpływ stresu ozonowego i składu spektralnego światła (WL, RGBL oraz WBL) na zmiany aktywności Cu/ZnSOD (A) oraz MnSOD (B) w gametoforach *Plagiomnium cuspidatum*. Wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie według testu Duncana przy $p \leq 0,05$; $n = 10$.

10. STRESZCZENIE

Mchy zaliczane są do najbardziej pierwotnych roślin lądowych. Mają małe wymagania życiowe i często zasiedlają miejsca niedogodne dla bytowania innych roślin. Występują w bardzo różnorodnych środowiskach zajmując zarówno miejsca zacienione jak i nasłonecznione. W porównaniu z roślinami wyższymi cechuje je prosta i nieskomplikowana budowa anatomiczna, która sprawia że w większym stopniu narażone są na stresy środowiskowe. Jednym z wielu czynników stresowych jest ozon troposferyczny. Wysokie stężenia tego gazu pojawiają się zazwyczaj z końcem kwietnia i utrzymują się do końca lata. Źródłem ozonu są przede wszystkim spaliny samochodowe, których ilość ciągle wzrasta na skutek rozwijającego się transportu. U roślin ozon uszkadza nie tylko błony komórkowe, ale także chloroplasty, mitochondria i inne struktury komórki. Zakłóca tym samym przebieg podstawowych procesów metabolicznych i wpływa negatywnie na plon roślin. Mimo wprowadzanych ograniczeń zanieczyszczeń powietrza, zwłaszcza w południowej Polsce, z roku na rok wzrasta liczba uszkodzonych drzewostanów.

Celem niniejszej pracy było określenie czy skład spektralny światła wpływa na przebieg procesów fizjologicznych u mchów w warunkach stresu ozonowego. Badania wykonano na *Plagiomnium cuspidatum*, *Polytrichastrum formosum* i *Pleurozium schreberi* rosnących na świetle białym (WL), czerwono-zielono-niebieskim (RGL) oraz biało-niebieskim (WBL). Stres ozonowy wywoływano poprzez fumigację roślin ozonem o stężeniu 100 ppb. Badania obejmowały ocenę tempa wzrostu, zmian wartości świeżej i suchej masy, uwodnienia gametofitów mchów (analiza morfometryczna), przepuszczalności błon komórkowych (konduktometria), zawartości chlorofilu, flawonoidów i wartości wskaźnika indeksu azotowego (NBI) (metoda fluorymetryczna), sprawności fotochemicznej PSII (pomiar parametrów kinetyki fluorescencji chlorofilu *a*), aktywności metabolicznej (kalorymetria izotermiczna), widm emisyjnych fluorescencji liści w zakresie niebiesko-zielonym i w zakresie czerwień-daleka czerwieni (spektrofluorymetria), a także aktywności izoform dysmutazy ponadlitenkowej w gametoforach mchu *P. cuspidatum*.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono występowanie częstych interakcji pomiędzy wpływem ozonu na wzrost i wybrane procesy fizjologiczne mchów, a składem spektralnym światła. W prezentowanej pracy wykazano, że ozon spowalnia wzrost elongacyjny gametofitów mchów, ale stymuluje, niezależnie od spektrum światła,

wzrost świeżej masy oraz zwiększa stopień uwodnienia mchów. Generalnie, zastosowane metody pomiaru zawartości chlorofilu, wykazały wpływ ozonu na wzrost całkowitej zawartości tego barwnika w gametoforach mchów. W warunkach stresu ozonowego, bez względu na barwę światła, stwierdzono wzrost zawartości flawonoidów w gametoforach mchów. Wartość wskaźnika NBI istotnie wzrastała pod wpływem stresu ozonowego u *P. cuspidatum* oraz u *P. formosum*. Wzrost wartości wskaźnika NBI był najwyższy na świetle białym (WL). Destabilizacja gospodarki wodno-jonowej mchów przez ozon była większa w warunkach spektrum RGBL, tj. przy podwyższonej ilości światła czerwonego. Niezależnie od barwy światła, ozon niekorzystnie wpływał na sprawność aparatu fotosyntetycznego mchów. Przeprowadzone pomiary kalorymetryczne wskazują, że aktywność metaboliczna gametofitów mchów, podczas fumigacji ozonem w różnym składzie spektralnym światła, zależy od gatunku. Widma intensywności fluorescencji niebiesko-zielonej, czerwonej i dalekiej czerwieni liści mchów wskazują na różnice pomiędzy roślinami ozonowanymi, a tymi rosnącymi w warunkach kontrolnych. Ponadto pokazano, że u mchu *P. cuspidatum* nadmiar promieniowania niebieskiego w widmie światła białego potęguje stres oksydacyjny powodowany przez ozon, na co wskazuje zwiększona aktywność izoform SOD.

Reasumując, można przypuszczać, że odpowiedzi mchów na czynniki stresowe silnie zależą od gatunku oraz środowiska występowania. Nie mniej interakcja pomiędzy składem spektralnym światła, a innymi abiotycznymi czynnikami środowiska powinna być brana pod uwagę przy analizie odpowiedzi mchów i innych roślin na stres.

11. ABSTRACT

Mosses are among the most primitive land plants. They have a small life requirements and often inhabit areas inconvenient for the existence of other plants. They occur in a wide variety of habitats, both shaded and sunny areas. Compared to the higher plants they are characterized by simple and uncomplicated anatomy, which makes them more exposed to the environmental stresses. The tropospheric ozone is one of the many stress factors. The high concentrations of this gas appear typically at the end of April and persist until the end of September. The source of ozone are mainly car exhaust, whose number is constantly being increased due to the growing transport. In plants, ozone causes the damages of cell membranes, chloroplasts, mitochondria, and other cell structures. Ozone interferes with basic metabolic processes and affects the yield of plants. Despite the restrictions placed on air pollution, especially in southern Poland, the number of damaged forests is being increased from one year to another.

The aim of this study was to determine the impact of spectral composition of light on the physiological processes of mosses under ozone stress. The experiments were carried out on *Plagiomnium cuspidatum*, *Polytrichastrum formosum* and *Pleurozium schreberi* in white light (WL), red-green-blue (RGLB), and blue and white (WBL). Ozone stress was induced by plant ozone fumigation in concentration of 100 ppb. The growth of plant, fresh and dry mass, water content of mosses gametophytes (morphometric analysis), the electrolyte leakage (conductometry), the chlorophyll content, flavonoids and values of nitrogen balance index (NBI) (fluorimetric method), the photochemical PSII efficiency (measurement kinetics parameters of chlorophyll fluorescence *a*), metabolic activity (isothermal calorimetry), fluorescence emission spectra of leaves in blue-green and red-far red (spectrofluorimetry) and the activity of SOD isoforms (for *P. cuspidatum*) were measured.

The results were found frequent interaction between the impact of ozone on the growth and the physiological processes of mosses, and the spectral composition of light. The present study demonstrated that ozone reduces the growth elongation of mosses gametophytes but stimulates, regardless of the light spectrum, the increase of fresh mass and water content of mosses. In general, the methods used for measuring of the chlorophyll content showed the impact of this gas on the increase in the total content of chlorophyll in mosses gametophores. The ozone stress, regardless of the light spectrum, caused increase in flavonoid content in gametophores of mosses. The value

of nitrogen balance index (NBI) significantly increased under the ozone stress in *P. cuspidatum* and *P. formosum*. The increase in the value of NBI was the highest in white light (WL). The electrolyte leakage during ozone fumigation was higher in RGBL with spectrum rich in red light. Regardless of the spectral composition of light, ozone adversely affect the efficiency of the photosynthetic apparatus of mosses. Isothermal calorimetric measurements showed that metabolic activity of mosses gametophytes, during ozone fumigation at different spectral composition of light, depends on the species. The intensity of the blue-green, red and far red fluorescence of mosses leaves indicate the differences between ozone fumigated plants and those growing in the control conditions. Furthermore, it was shown that in moss by *P. cuspidatum* excess of blue radiation in the spectrum of white light enhances the oxidative stress caused by ozone, as shown by increased activity of SOD isoforms.

In summary, it may be assumed that the response of mosses to stress factors strongly depends on the species and environment conditions. The interaction between the spectral composition of light, and other abiotic factors of the environment should be taken into account when analyzing the response of mosses and other plants stress.