

Załącznik 2

Dr inż. Beata Smolińska

Politechnika Łódzka

Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności

**Autoreferat z opisem dorobku i osiągnięć naukowych
związanych z postępowaniem habilitacyjnym**

1. Dane personalne

Imię i nazwisko: Beata Smolińska
Miejsce zatrudnienia: Politechnika Łódzka,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności,
Instytut Podstaw Chemii Żywności,
ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź
Adres e-mail: beata.smolinska@p.lodz.pl

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe (z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej)

- 2001** Tytuł *inżyniera ochrony środowiska*, w zakresie **biotechnologii środowiska**,
Politechnika Łódzka, Wydział Chemii Spożywczej i Biotechnologii
Temat pracy inżynierskiej: *Badanie aktywności wybranych hydrolaz glikozydowych w próbkach gleb aglomeracji łódzkiej*
Promotor: dr Krystyna Siwińska
- 2002** Tytuł *magistra biotechnologii*, w zakresie **biotechnologii środowiska**,
Politechnika Łódzka, Wydział Chemii Spożywczej i Biotechnologii
Temat pracy magisterskiej: *Analiza wpływu metali ciężkich na aktywność enzymatyczną gleby*
Promotor: dr hab. Tadeusz Trzmiel, prof. nadzw. PŁ
- 2006** Stopień naukowy **doktora nauk technicznych** w dyscyplinie **technologii chemicznej**,
Politechnika Łódzka, Wydział Chemii Spożywczej i Biotechnologii
Temat rozprawy doktorskiej: *Fitoremediacja gleb zanieczyszczonych związkami rtęci*
Promotor: dr hab. inż. Krystyna Cedzyńska, prof. nadzw. PŁ

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

01.10.2006 – 30.09.2007 Asystent w Instytucie Podstaw Chemii Żywności PŁ
01.10.2007 – do chwili obecnej Adiunkt w Instytucie Podstaw Chemii Żywności PŁ

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r, poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311):

A) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

**Fizjologiczne i metaboliczne podstawy reakcji *Lepidium sativum* L.
na substancje wspomagające biologiczne oczyszczanie gleb z rtęci**

B) wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy:

H-1. Smolińska B., (2015), Green waste compost as an amendment during phytoextraction of mercury contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research* 22(5): 3528-3537.
IF₂₀₁₅= 2,760; IF_{5-letni}=3,023; MNiSW = 30**;

Mój wkład w realizację badań przedstawianych w publikacji obejmuje koncepcję badań, planowanie doświadczeń, przeprowadzenie badań, opracowanie wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowanie manuskryptu. Mój udział wynosi 100%.

H-2. Smolińska B., Leszczyńska J., (2017), Photosynthetic pigments and peroxidase activity of *Lepidium sativum* L. during assisted Hg phytoextraction. *Environmental Science and Pollution Research* 24: 13384-13393;
IF_{5-letni}=3,023*; MNiSW=30**;

Mój wkład w realizację badań przedstawionych w publikacji obejmuje: koncepcję badań, planowanie doświadczeń, przeprowadzenie badań, opracowanie wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowanie manuskryptu (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 95%.

H-3. Smolińska B., Bonikowski R., (2018), Activation of non-enzymatic antioxidants by *Lepidium sativum* L. exposed to Hg during assisted phytoextraction. *Clean – Soil, Air, Water* 46, 1700667 doi: 10.1002/clen.201700667
IF_{5-letni}=1,881*; MNiSW=30**;

Mój wkład w realizację badań przedstawionych w publikacji obejmuje: koncepcję badań, planowanie doświadczeń, przeprowadzenie badań, opracowanie wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowanie manuskryptu (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 90%.

- H-4. Smolińska B.,** Leszczyńska J., (2015), Influence of combined use of iodide and compost on Hg accumulation by *Lepidium sativum* L. Journal of Environmental Management 150: 499-507.

IF₂₀₁₅=3,131; IF_{5-letni}=4,712; MNiSW=35**;

Mój wkład w realizację badań przedstawionych w publikacji obejmuje: koncepcję badań, planowanie doświadczeń, przeprowadzenie badań, opracowanie wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowanie manuskryptu (autor korespondencyjny). Mój udział szacuję na 95%.

- H-5. Smolińska B.,** Szczodrowska A., (2017), Antioxidative response of *Lepidium sativum* L. during assisted phytoremediation of Hg contaminated soil. New Biotechnology 38: 74-83;

IF_{5-letni}=3,240*; MNiSW=30**;

Mój wkład w realizację badań przedstawionych w publikacji obejmuje: koncepcję badań, planowanie doświadczeń, przeprowadzenie badań, opracowanie wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowanie manuskryptu (autor korespondencyjny). Mój udział szacuję na 95%.

- H-6. Smolińska B.,** Rowe S., (2015), The potential of *Lepidium sativum* L. for phytoextraction of Hg contaminated soil assisted by thiosulphate. Journal of Soils and Sediments 15: 393-400.

IF₂₀₁₅= 2,206; IF_{5-letni}=2,703; MNiSW=30**;

Mój wkład w realizację badań przedstawionych w publikacji obejmuje: koncepcję badań, planowanie doświadczeń, przeprowadzenie badań, opracowanie wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowanie manuskryptu (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 90%.

- H-7. Smolińska B.,** Szczodrowska A, Leszczyńska J., (2017), Protein changes in *Lepidium sativum* L. exposed to Hg during soil phytoremediation. International Journal of Phytoremediation 19: 765-773;

IF_{5-letni}=1,939*; MNiSW=25**;

Mój wkład w realizację badań przedstawionych w publikacji obejmuje: koncepcję badań, planowanie doświadczeń, przeprowadzenie badań, opracowanie wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowanie manuskryptu (autor korespondencyjny). Mój udział szacuję na 90%.

- H-8. Smolińska B.,** (2017), Sposób fitoremediacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi, zwłaszcza rtęcią Patent RP PAT.227108. MNiSW=25;

Mój wkład polegał na samodzielnym opracowaniu koncepcji pracy badawczej, planowaniu i wykonaniu doświadczeń, przygotowaniu dokumentacji patentowej oraz opracowaniu treści zgłoszenia patentowego. Mój udział wynosi 100%.

*IF impact factor zgodny z rokiem opublikowania lub w przypadku publikacji z 2017 i 2018 roku IF 5-letni, wyliczony przez Thompson Reuters dla roku 2016, dostępny na Web of Science.

**pkt MNiSW – punkty zgodne z rokiem opublikowania lub wykazem z dnia 26 stycznia 2017 (publikacja MNiSW).

Wymienione artykuły oraz patent dołączone zostały w *Załączniku 4* i cytowane są w tekście z literą 'H' przed numerem odnośnika (np. praca H-1). Do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego dołączono oświadczenia współautorów pracy określające indywidualny wkład w jej powstanie (*Załącznik 5*).

Osiągnięcie będące podstawą ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych, w dyscyplinie biotechnologia zostało przedstawione w cyklu publikacji o łącznym współczynniku wpływu:

IF=18,180*; IF_{5-letni}=20,521*; MNiSW=235.**

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

Podstawą wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego są oryginalne wyniki badań przedstawione w cyklu siedmiu artykułów naukowych powiązanych tematycznie i opublikowanych w czasopismach z *Thompson Reuters Master Journal List* (tzw. listy filadelfijskiej), ujętych w zbiorach *Journal Citation Reports (JCR)* oraz jednego patentu.

Osiągnięcie naukowe przedstawione do oceny jest wynikiem badań prowadzonych w latach **2011-2016**, dotyczących fizjologicznych i metabolicznych podstaw reakcji *Lepidium sativum* L. na substancje wspomagające biologiczne oczyszczanie gleb zanieczyszczonych rtęcią. W przeprowadzonych badaniach oceniono potencjalną toksyczność substancji wspomagających fitoekstrakcję rtęci, tj. kompostu lub/i kwasu cytrynowego, kwasu nitrylotriooctowego, jodku potasu oraz tiosiarczanu sodu (rozdzielnie i łącznie) na pieprzycę siewną (*L. sativum* L.). Przyczyn toksyczności upatrywano w stresie oksydacyjnym, zachodzącym w komórkach roślinnych na skutek działania rtęci (Hg) i substancji wspomagających fitoekstrakcję, dlatego w badaniach oceniono poziom najważniejszych wskaźników stresu, zmiany zawartości antyoksydantów oraz ich związek z akumulacją Hg. Poznanie reakcji rośliny na Hg i substancje wspomagające fitoekstrakcję stanowiło podstawę do opracowania i oceny skuteczności nowych metod usuwania Hg z zanieczyszczonej gleby.

Wprowadzenie

Zanieczyszczenie środowiska Hg stanowi problem globalny. Hg uważana jest za osobliwy pierwiastek, ze względu na swoje właściwości chemiczne, aktywność biologiczną oraz zmienność postaci występowania. Stały dopływ tego metalu do środowiska, jego duża aktywność geochemiczna i biochemiczna decydują o zagrożeniu dla wszystkich ekosystemów. Specyficzne zachowanie rtęci w różnych ekosystemach utrudnia pełne przewidywanie wpływu tego metalu na organizmy żywe (Kabata-Pendias i Pendias, 2001).

Wzrastające zanieczyszczenie środowiska Hg pochodząca ze źródeł naturalnych i antropogenicznych stanowi poważny problem w wielu rejonach świata. Pomimo znaczącego ograniczenia zużycia Hg w wielu gałęziach przemysłu, metal ten nadal przedostaje się do powietrza, wód oraz gleb, stanowiąc poważny problem dla zdrowia ludzi i środowiska. W 2005 roku Program Środowiskowy Organizacji Narodów Zjednoczonych (UNEP) oszacował globalne zużycie Hg na poziomie 3000-3900 ton rocznie, z czego ponad połowa została wykorzystana w krajach azjatyckich, a około 12% w Europie (Bourguignon, 2017). Z kolei wg. Komisji Europejskiej aktualne zapotrzebowanie na Hg w krajach wspólnoty wynosi 260-400 ton w skali roku. Zgodnie z prognozami zużycie Hg w latach 2025-2030 ulegnie zmniejszeniu do około 40-220 ton/rok, głównie na skutek wycofania Hg z sektora przemysłu chloro-alkalicznego (Bourguignon, 2017). Problem dopływu Hg do środowiska i jej toksycznego działania na wszystkie organizmy żywe wymusił regulację wszelkich aspektów stosowania tego pierwiastka i jego związków. 11 maja 2017 roku Rada Unii Europejskiej przyjęła decyzję o zawarciu konwencji z Minamaty w sprawie Hg, której głównym celem jest zapobieganie zanieczyszczeniom rtęciowym (Bourguignon, 2017). 16 sierpnia 2017 roku konwencja weszła w życie (Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady UE 2017/852).

Zanieczyszczenie środowiska Hg jest aktualnym problemem środowiskowym. Zgodnie z raportem Europejskiej Agencji Środowiska (EEA), krajami europejskimi emitującymi największe ilości tego metalu do środowiska są Polska (17,2%), Niemcy (17,0%), Włochy (13,4%) oraz Anglia (10,1%) i Hiszpania (8,9%). Ponad połowa Hg deponowanej do środowiska w krajach unijnych jest efektem produkcji i dystrybucji energii (EEA Report, 2016). Hg jest najczęściej emitowana w formie gazowej do atmosfery, skąd może być transportowana na znaczne odległości od punktu emisji. Pierwiastek ten może wraz z opadami atmosferycznymi przedostawać się do wód i gleb, powodując ich zanieczyszczenie (Jeziński i wsp., 2011). W Europie podwyższony poziom

Hg można znaleźć w osadach i wodach przybrzeżnych Morza Bałtyckiego i Północnego (Bourguignon, 2017). Z kolei wysokie stężenia Hg w glebach odnotowano w rejonach kopalni Hg rodzimej w Hiszpanii (Almaden), Włoszech (Monte Amiata) oraz Słowenii (Idrija) (Ottesen i wsp., 2013). Zwiększone stężenia Hg w glebach Polski zaobserwowano w rejonie zachodnich Sudetów oraz w rejonach przemysłowych i aglomeracji miejskich (Ottesen i wsp., 2013; Pasieczna, 2014). Hg dostająca się do gleb może ulegać transformacjom, m.in. wymywaniu, metylacji, biologicznej redukcji czy utlenianiu, co sprzyja jej rozprzestrzenianiu się (Moreno i wsp., 2005). Gleby obciążone tym metalem stanowią zagrożenie dla wszystkich organizmów żywych, ze względu na możliwość absorbowania rtęci przez mikroorganizmy i rośliny, a tym samym przedostawania się metalu do łańcucha troficznego (Kabata-Pendias i Pendias, 2001). Istnieje zatem konieczność oczyszczania gleb zanieczyszczonych rtęcią.

Metody stosowane do oczyszczania gleb zanieczyszczonych Hg obejmują procesy fizyczne i chemiczne, m.in. usunięcie zanieczyszczonej gleby, mycie, przemywanie *in situ*, chemiczną ekstrakcję oraz elektroremediację (Smolińska, 2010). Metody te wymagają jednak dużych nakładów finansowych i mogą być stosowane tylko przy małej skali zanieczyszczeń (Singh i wsp., 2016). Alternatywę stanowią metody biologiczne. Fitoekstrakcja jest metodą oczyszczania gleb i wód z metali ciężkich, która polega na zastosowaniu roślin wyższych do akumulacji metali ciężkich w swoich nadziemnych organach. Zanieczyszczenia są usuwane wraz ze zbiorem nadziemnej biomasy roślinnej (Evangelou i wsp., 2007). Kluczową rolę w tym procesie odgrywają rośliny. Rośliny wykazujące zdolności do gromadzenia w swoich pędach wysokich stężeń metali ciężkich nazywane są hiperakumulatorami i są stosowane w procesie naturalnej fitoekstrakcji. Z kolei fitoekstrakcja wspomagana polega na wykorzystaniu roślin wyższych, u których zwiększona akumulacja zanieczyszczeń w nadziemnych częściach roślin jest wynikiem dodawania do gleby substancji wspomagających proces (Evangelou i wsp., 2007).

Idealna roślina hiperakumulatorowa powinna charakteryzować się tolerancją wysokich stężeń metali ciężkich, adaptacją do lokalnych warunków środowiskowych, szybkim wzrostem oraz dużym przyrostem biomasy. Ponadto jednym z najistotniejszych warunków, jakie powinna spełniać, jest efektywna translokacja zanieczyszczeń do nadziemnych organów. Dotychczas jednak nie zidentyfikowano rośliny, która spełniałaby wszystkie powyższe kryteria (Mahar i wsp., 2016). Wiele roślin hiperakumulatorowych, wyróżniających się ponadprzeciętną zdolnością magazynowania metali ciężkich, np. cynku, kadmu czy niklu, to rośliny zielne, wolno rosnące, o małym przyroście biomasy

i płytkim systemie korzeniowym, jak np. tobołki (*Thlaspi* L.), czy smagliczki (*Allysum* L.) (Grobelać i wsp., 2010). Alternatywnie, stosowanie drzew, np. topoli lub wierzby, charakteryzujących się bujnym systemem korzeniowym i wysoką biomasa, jest ograniczone ze względu na niską efektywność gromadzenia metali oraz długi czas prowadzenia procesu oczyszczania (Mahar i wsp., 2016). Coraz częściej poszukiwane są rośliny o zwiększonej tolerancji na metale ciężkie i krótkim okresie wegetacji, cechujące się szybkim przyrostem nadziemnej biomasy.

Zgodnie z obecnym stanem wiedzy nie zidentyfikowano rośliny, będącej hiperakumulatorem Hg. Z tego względu w ostatnich latach oceniono możliwość zastosowania m.in. kapusty sitowatej (*Brassica Juncewa* L.) oraz jatrofy przeczyszczającej (*Jatropha curcas* L.) w fitoekstrakcji Hg z gleby (Wang i wsp., 2017; Marrugo-Negrete i wsp., 2016). Rezultaty powyższych badań wskazały na magazynowanie Hg głównie w korzeniach roślin, co znacząco obniżyło efektywność naturalnej fitoekstrakcji. Inne ograniczenia w zastosowaniu ww. gatunków to redukcja biomasy na skutek ekspozycji rośliny na Hg (kapusta sitowata) oraz warunki klimatyczne uprawy rośliny (subtropikalne dla jatrofy). Inne badania obejmowały charakterystykę potencjału oczyszczania gleb z Hg prowadzonego przy udziale turi wielkowiutowego (*Sesbania grandiflora* L.) (Malar i wsp., 2015). Akumulacja metalu w korzeniach oraz redukcja biomasy to realne ograniczenia fitoekstrakcji z udziałem tej rośliny. Z kolei testy dotyczące potencjału roślin jednorocznych, charakteryzujących się wysoką biomasa, np. jęczmienia (*Hordeum* L.), pszenicy (*Triticum aestivum* L.), oraz łubinu (*Lupinus polyphyllus* L.) wykazały, że pomimo częściowego magazynowania Hg w nadziemnych organach roślin, ich zastosowanie w oczyszczaniu gleb było nieefektywne. Zbyt niskie stężenia metalu były ekstrahowane z gleby w skali roku (Rodriguez i wsp., 2007). Ze względu na powyższe, stale poszukiwane są gatunki roślin, których zastosowanie w fitoremediacji gleb z Hg spełni stawiane oczekiwania.

Pieprzyca siewna (*Lepidium sativum* L.), znana również pod nazwą zwyczajową rzeżucha ogrodowa, jest rośliną należącą do rodziny *Brassicaceae*. Jest to roślina konsumpcyjna, bogata w makro i mikroelementy oraz witaminy. Uprawiana jest w wielu rejonach świata (Egipt, państwa azjatyckie oraz europejskie) ze względu na walory kulinarne oraz zastosowania medyczne (Nehdi i wsp., 2012). W Polsce uprawa tej rośliny jest prowadzona sezonowo i ograniczona do skali amatorskiej. *L. sativum* L. charakteryzuje się krótkim okresem wegetacji oraz możliwością i łatwością uprawy niezależnie od warunków klimatycznych, glebowych oraz pory roku (Wadhwa i wsp.,

2012; Nehdi i wsp., 2012). Wysoka wrażliwość tej rośliny na zanieczyszczenia występujące w środowisku umożliwia jej zastosowanie w biologicznych testach oceny jakości wód i gleb (OECD, 1984; Janecka i Fijałkowski, 2008). Badania z wykorzystaniem tego gatunku są stosowane do oceny fitotoksyczności gleby spowodowanej m.in. metalami ciężkimi, związkami ropopochodnymi, wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi oraz ostatnio nanocząstkami cynku i niklu (Czora i Czech, 2013; Joško i Oleszczuk, 2013). Pieprzyca siewna jest również rośliną wykazującą potencjał w procesach fitoremediacji. Mojiri i wsp. (2013) wykazali wysoką akumulację niklu w *L. sativum* L., wynoszącą ponad 50% zanieczyszczenia gleby, dla optymalnych warunków uprawy. Badania prowadzone nad fitoremediacją ołowiu wskazały na zdolność magazynowania tego metalu zarówno w korzeniach, jak i nadziemnych organach rośliny (Catherine i Navab, 2014). Z kolei prace Jahanbakhshi i wsp. (2015) udowodniły, że *L. sativum* L. może być wykorzystana w fitoremediacji kadmu, natomiast jej użycie do usuwania chromu z zanieczyszczonej gleby jest mało efektywne. *L. sativum* L. jest również rośliną, wykazującą potencjał w gromadzeniu Hg, stanowiącej zanieczyszczenie gleby (Smolińska i Cedzyńska, 2007).

Niska biodostępność Hg w roztworze glebowym oraz jej wysoka toksyczność znacząco ograniczają naturalną fitoekstrakcję. Coraz częściej prowadzone są prace nad możliwością wprowadzenia do gleby substancji chemicznych, umożliwiających zwiększenie akumulacji Hg w roślinach. Dotychczas wykazano, że związki chemiczne, m.in. EDTA, jodek potasu, tiosiarczan sodu oraz amonu, sprzyjają zwiększeniu mobilności Hg w glebie, co przekłada się na zwiększenie akumulacji tego metalu przez rośliny (Smolińska i Cedzyńska, 2006; Smolińska i Cedzyńska, 2007; Smolińska i Cedzyńska, 2009; Wang i wsp., 2017). Jednakże zastosowanie powyższych związków w środowisku naturalnym jest obciążone ryzykiem transferu Hg do okolicznych ekosystemów, na skutek jej zwiększonego wymywania. W związku z powyższym kontynuowane są prace nad fitoekstrakcją wspomaganą związkami, których zastosowanie zwiększa efektywność oczyszczania, przy jednoczesnym ograniczeniu negatywnych konsekwencji dla środowiska.

Badania dotyczące fitoekstrakcji obejmują nie tylko ocenę skuteczności usuwania metali z zanieczyszczonej matrycy przy udziale poszczególnych gatunków roślinnych. Coraz częściej uwaga naukowców jest zwrócona w kierunku poznania procesów zachodzących w roślinie, które mogą mieć związek z ich zwiększoną tolerancją na metale ciężkie. Pierwiastki te, w tym Hg, sprzyjają generowaniu nadmiaru reaktywnych form

tlenu (RFT) w komórkach roślinnych. Zachwianie równowagi pomiędzy ilością wytwarzanych RFT a ich usuwaniem może skutkować peroksydacją lipidów w błonach komórkowych roślin, uszkodzeniami DNA, białek, węglowodanów, barwników asymilacyjnych, czy zahamowaniem aktywności enzymatycznej. W konsekwencji procesy życiowe roślin są zaburzone, a w skrajnych przypadkach może nawet dochodzić do ich obumarcia. Podczas fitoekstrakcji ważna jest ogólna kondycja rośliny, która zapewni efektywne gromadzenie metalu w swoich organach. W związku z tym, podstawowym zadaniem rośliny jest zapobieganie uszkodzeniom poprzez aktywację systemu obrony antyoksydacyjnej.

Prace badawcze, prowadzone w ostatnich latach na świecie obejmują analizy zmian systemu antyoksydacyjnego roślin, zachodzące pod wpływem ich ekspozycji na metale ciężkie, występujące w glebach lub wodach. W przedstawionych do oceny oryginalnych badaniach chciałam wykazać związek pomiędzy aktywacją enzymatycznego i nieenzymatycznego systemu antyoksydacyjnego *L. sativum* L. i zwiększoną akumulacją Hg, zachodzącą pod wpływem substancji wspomagających fitoekstrakcję.

Cel badań

Celem prowadzonych badań była analiza fizjologicznych i metabolicznych podstaw reakcji *L. sativum* L. na substancje wspomagające biologiczne oczyszczanie gleb z Hg, tj. kompostu lub/i kwasu cytrynowego, kwasu nitrylotrioctowego, jodku potasu oraz tiosiarczanu sodu. Badania miały również na celu ocenę fitotoksyczności proponowanych substancji wspomagających fitoekstrakcję oraz opracowanie efektywnej technologii oczyszczania gleb z Hg.

Cel i zakres prac badawczych obejmował:

1. Analizę fitotoksyczności substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg z gleby
2. Charakterystykę podstawowych czynności życiowych i stresu oksydacyjnego w *L. sativum* L. poddanych działaniu Hg i substancji wspomagających fitoekstrakcję
3. Ocenę efektywności procesów oczyszczania gleb z Hg wraz z określeniem praktycznych aspektów zastosowania wybranych substancji wspomagających fitoekstrakcję

Do realizacji powyższych celów wykorzystałam pieprzycę siewną (*L. sativum* L.), która była uprawiana w kontrolowanych warunkach (stała temperatura, oświetlenie oraz wilgotność). Wybór powyższej rośliny został dokonany w oparciu o takie jej cechy jak: krótki okres wegetacji, niewielkie wymagania uprawowe, a także potencjał gromadzenia metali w komórkach. W badaniach zastosowałam glebę naturalną, pobraną z powierzchniowej warstwy (0-30 cm) z okolic Łodzi. Szczegółowa charakterystyka fizyko-chemiczna pobranej gleby została przedstawiona w pracy H-1. Przed uprawą roślin gleba była sztucznie zanieczyszczona, poprzez wprowadzenie do niej Hg w stężeniach 10 i 100 mg kg⁻¹ s.m. gleby.

Prace dotyczące fitoekstrakcji polegały na zastosowaniu substancji wspomagających, tj. kompostu lub/i kwasu cytrynowego, kwasu nitrylotrioctowego, jodku potasu oraz tiosiarczanu sodu. Mając na uwadze ryzyko środowiskowe oraz względy ekonomiczne, nowatorsko zastosowałam łącznie kompost i kwas cytrynowy, kompost i jodek potasu oraz kompost i tiosiarczan, jako substancje zwiększające biodostępność Hg w glebie, ograniczające transfer Hg do innych ekosystemów, a także racjonalne ze względów ekonomicznych. Szeroki wybór substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg był podyktowany chęcią wyboru najlepszej spośród nich, charakteryzującej się korzystnym wpływem na proces. W związku z brakiem danych literaturowych w zakresie wpływu powyższych substancji na rośliny, swoimi badaniami objęłam fizjologiczną i metaboliczną reakcję pieprzycy siewnej na powyższe substancje.

W ramach realizacji **celu 1**, oceny fitotoksyczności substancji wspomagających oczyszczanie gleb z Hg dla *L. sativum* L. dokonałam na podstawie kilku kluczowych parametrów, związanych ze wzrostem i rozwojem rośliny. Ze względu na ich wprowadzenie do gleby zanieczyszczonej Hg, oceniłam również fitotoksyczność łącznie substancji wspomagających proces i Hg. Ewaluacji fitotoksyczności dokonałam na podstawie pomiaru plonu świeżej i suchej masy roślinnej, z uwzględnieniem podziału na organy nadziemne i podziemne, oraz oceny elongacji długości korzeni i pędów pieprzycy siewnej. Analizy obejmowały również wyznaczenie wskaźników absorpcji wody oraz indeksów tolerancji, określających zmiany w przyroście biomasy oraz ocenę wizualnych uszkodzeń roślin.

Określenia wpływu substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg na podstawowe czynności życiowe *L. sativum* L. (**cel 2**) dokonałam w oparciu o zmiany zawartości chlorofilu *a* i *b*. Oznaczenie chlorofilu *a* i *b* umożliwiło ocenę funkcjonowania aparatu fotosyntetycznego rośliny. Ze względu na znaczącą redukcję stężeń chlorofilu *a* i *b*

w roślinach, ocena prawidłowości prowadzonych czynności życiowych pieprzycy siewnej została przeprowadzona na podstawie pomiaru feofityn *a* i *b*. Feofityny są produktami degradacji chlorofilu *a* i *b*, która zachodzi na skutek wyparcia jonu magnezu z chlorofilu i zastąpienia go innymi jonami, np. jonami Hg. Tworzenie feofityn jest wyraźnym wskaźnikiem degradacji chlorofilu *a* i *b* i świadczy o zaburzeniach w funkcjonowaniu aparatu fotosyntetycznego rośliny. Realizacja **celu 2** została również oparta na określeniu wielkości stresu oksydacyjnego w *L. sativum* L. pod wpływem substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg. Markerem, który oznaczyłam w badaniach, jest ilość powstającego dialdehydu malonowego (MDA) oraz stężenie nadtlenku wodoru (H₂O₂) w roślinie. Metabolicznej charakterystyki rośliny dokonałam w oparciu o ocenę systemu antyoksydacyjnego, aktywowanego podczas jej ekspozycji na Hg i substancje wspomagające fitoekstrakcję. Badaniami objęłam zmiany zachodzące w nieenzymatycznym systemie antyoksydacyjnym pieprzycy siewnej, zawierającym niskocząsteczkowe substancje, m.in. kwas askorbinowy, tokoferole, flawonoidy i fenole oraz karotenoidy, indukowane podczas ekspozycji roślin na substancje wspomagające fitoekstrakcję Hg. Analizy zmian metabolicznych w *L. sativum* L. obejmowały również oznaczenie enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego rośliny, na który składają się katalaza (CAT, EC 1.11.1.6), peroksydaza askorbinianowa (APX, EC 1.11.1.11), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD, EC 1.15.1.1), peroksydaza gwajakolowa (POD, EC 1.11.1.7) oraz transferaza glutationowa (GST, EC 2.5.1.18). W ramach prac nad metaboliczną charakterystyką rośliny wykonałam ilościowe i jakościowe oznaczenie zawartości białek w *L. sativum* L.

Praktyczny aspekt moich badań, realizowany w ramach **celu 3**, polegał na oznaczeniu stopnia akumulacji Hg w pieprzycy siewnej podczas fitoekstrakcji wspomaganiej oraz ocenie efektywności procesów oczyszczania gleb z zastosowaniem kompostu lub/i kwasu cytrynowego, kwasu nitrylotrioctowego, jodku potasu oraz tiosiarczanu sodu. W ramach powyższych badań wyznaczyłam wskaźniki efektywności prowadzonych procesów, tj. wskaźnik akumulacji (AF), określający stosunek stężenia Hg w całej roślinie do jej stężenia w glebie; wskaźnik biokoncentracji (BCF) będący stosunkiem stężenia Hg w pędach do stężenia w glebie oraz wskaźnik translokacji (TF), informujący o stosunku stężenia Hg w pędach rośliny do koncentracji tego metalu w korzeniach. Wskaźniki posłużyły krytycznej ocenie proponowanych procesów oczyszczania gleb z Hg. Ostatnim elementem prowadzonych badań było określenie praktycznych możliwości zastosowania wybranych substancji wspomagających

oczyszczanie gleb z Hg z uwzględnieniem ich fitotoksyczności oraz wskazaniem potencjalnych ograniczeń w ich zastosowaniu w środowisku, obejmujących zarówno ryzyko środowiskowe, jak i aspekt ekonomiczny.

Nowatorstwo moich badań polega na ocenie fitotoksyczności substancji wspomagających oczyszczanie gleb z Hg oraz wykazaniu związku pomiędzy aktywacją systemu antyoksydacyjnego *L. sativum* L. i zwiększoną akumulacją Hg w pędach roślin, zachodzącą w fitoekstrakcji wspomaganej. Jako pierwsza zastosowałam kompost w połączeniu ze związkami chemicznymi, jako substancje wspomagające fitoekstrakcję Hg z gleby.

Omówienie uzyskanych wyników

C1. Ocena fitotoksyczności substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg z gleby

[H-1; H-2; H-3; H-4; H-6; H-7]

Badania dotyczące oddziaływania substancji wspomagających fitoekstrakcję na wzrost i rozwój *L. sativum* L. polegały na określeniu ich fitotoksyczności. Zdobyta w ten sposób wiedza miała na celu wskazanie tych substancji, które mogą stanowić zagrożenie dla roślin w indukowanej fitoekstrakcji.

Jednym z objawów negatywnego oddziaływania substancji chemicznych na rośliny jest zahamowanie ich wzrostu. Bezpośrednie przyczyny tego zjawiska są związane ze zmniejszeniem liczby nowo powstających komórek oraz zaburzeniami w ich elongacji. Z kolei pośrednie przyczyny hamowania wzrostu roślin obejmują m.in. zaburzenia metabolizmu i struktury komórki (np. spadek intensywności fotosyntezy, deficyt niektórych składników mineralnych, inaktywację enzymów) oraz uruchomienie reakcji odpornościowych, umożliwiających przeżycie w warunkach stresu środowiskowego (Woźny i Goździcka-Józefiak, 2010). Dotychczasowe badania dotyczące bezpośrednich przyczyn zahamowania wzrostu roślin pod wpływem substancji chemicznych oparte były na przyroście biomasy roślin uprawianych na zanieczyszczonych podłożach. Jednakże, oprócz świeżej i suchej masy roślinnej, istotnym wskaźnikiem toksyczności substancji występujących w podłożu może być również przyrost długości roślin oraz absorpcja wody (Kopcewicz i Lewak, 2002).

Prace badawcze rozpoczęłam od przeprowadzenia doświadczeń wazonowych, mających na celu analizę wpływu kompostu lub/i kwasu cytrynowego, kwasu nitrylotriooctowego, jodku potasu oraz tiosiarczanu sodu na wzrost i rozwój pieprzycy siewnej. Ze względu na zastosowanie powyższych substancji jako dodatków do gleby zanieczyszczonej Hg w fitoekstrakcji wspomaganej, podjęte przeze mnie badania dotyczyły również określenia jednoczesnego wpływu substancji wspomagających biologiczne oczyszczanie i Hg na cechy fizjologiczne *L. sativum* L.

Praca H-4 obejmowała ocenę fitotoksyczności kompostu produkowanego z zielonych odpadów. Badaniami objęłam podłoża, zawierające w swoim składzie niezanieczyszczoną glebę i kompost w stosunku wagowym gleba/kompost 3/1 i 4/1. W przeprowadzonych badaniach wykazałam, że zastosowanie kompostu, jako komponentu podłoża wzrostowego dla pieprzycy siewnej, stymulowało jej wzrost. Uprawa roślin na takich podłożach sprzyjała wzrostowi całkowitej ilości otrzymanej świeżej biomasy roślinnej, niezależnie od ilości zastosowanego kompostu. Stymulacja wzrostu biomasy roślinnej była związana ze zmianą właściwości fizyko-chemicznych podłoża. Zarówno zwiększenie puli substancji pokarmowych, jak i zawartości dostępnej dla roślin wody, przełożyło się na wzrost biomasy. Na uwagę zasługuje fakt wzrostu nadziemnej biomasy roślin, w odniesieniu do prób kontrolnych, stanowiących rośliny wyhodowane na niezanieczyszczonej glebie. Brak wizualnych symptomów chorobowych oraz wysoka biomasa pędów otrzymanego plonu jednoznacznie wskazały na brak fitotoksyczności kompostu w stosunku do *L. sativum* L. O ile braku fitotoksyczności kompostu można było oczekiwać, o tyle jego wpływ na rośliny uprawiane w glebie zanieczyszczonej Hg nie był dotychczas poznany. Kontynuacja badań dotyczących fitotoksyczności substancji wspomagających fitoekstrakcję polegała na określeniu jednoczesnego wpływu kompostu i Hg na wzrost i rozwój pieprzycy siewnej. Istotnym wskaźnikiem toksyczności substancji występujących w środowisku wzrostu roślin jest długość ich korzeni. Organ ten jest bezpośrednio narażony na kontakt z substancjami występującymi w podłożu. Zaburzenia wzrostu korzeni mogą prowadzić do zaburzeń w pobieraniu wody i składników pokarmowych, co przekłada się na ogólną kondycję rośliny. Jednym z celów **pracy H-1** było określenie jednoczesnego wpływu kompostu i Hg na elongację korzeni *L. sativum* L. Na podstawie otrzymanych wyników dowiodłam, że aplikacja kompostu do gleby zanieczyszczonej Hg (w stosunku wagowym gleba/kompost 2/1, 3/1 lub 4/1) ograniczyła toksyczne działanie Hg na rośliny, przyczyniając się do zwiększenia elongacji części korzeniowych roślin, w odniesieniu do prób kontrolnych. Co więcej, biomasa

nadziemnych organów *L. sativum* L. otrzymanych po uprawie na podłożu zanieczyszczonym Hg w stężeniu 10 mg kg^{-1} gleby zawierającym kompost w stosunku gleba/kompost 2/1 była wyższa od biomasy uzyskanej po uprawie na niezanieczyszczonej glebie.

Kolejne analizy dotyczyły oceny fitotoksyczności kompostu i kwasu cytrynowego. W badaniach przedstawionych w **pracy H-2** wykazałam, że przygotowanie podłoża do uprawy *L. sativum* L., zawierającego w swoim składzie ww. substancje, stymulowało wzrost roślin oraz ograniczało negatywny wpływ Hg na przyrost ich nadziemnych części. Wzrastający stosunek suchej masy do świeżej masy pędów rośliny jest objawem redukcji pobierania wody, co znajduje odzwierciedlenie w inhibicji wzrostu roślin. Utrzymanie stosunku suchej masy do świeżej w przypadku *L. sativum* L. uprawianych na podłożach zanieczyszczonych Hg i wzbogaconych kompostem oraz kwasem cytrynowym wskazało na brak zaburzeń w absorpcji wody. Ponadto, nawet przy wysokim zanieczyszczeniu podłoża Hg (w stężeniu 100 mg kg^{-1} s.m. gleby), łączne zastosowanie kompostu i kwasu cytrynowego, ograniczyło spadek ilości otrzymanej biomasy. Przeprowadzone analizy wskazały, że zarówno kompost, jak i kwas cytrynowy nie oddziaływały negatywnie na pieprzycę siewną. Takie podłoże zapewniało dostarczenie odpowiedniej ilości makro i mikroelementów oraz zwiększenie ich biodostępności dla pieprzycy siewnej.

Kontynuacja badań polegała na ocenie fitotoksyczności kwasu nitrylotriooctowego, jako substancji, której aplikacja do gleby może wpływać na zwiększenie efektywności fitoekstrakcji. W **pracy H-3** wykazałam, że kwas nitrylotriooctowy oddziaływał na wzrost *L. sativum* L., o czym świadczył niewielki spadek wyznaczonych indeksów tolerancji. Wprowadzenie tego związku do gleby zanieczyszczonej Hg przyczyniło się do obniżenia toksycznego oddziaływania Hg, co przełożyło się na wzrost biomasy pędów i korzeni, w porównaniu do biomasy uzyskanej po uprawie rośliny na glebie zanieczyszczonej Hg.

W badaniach zaprezentowanych w **pracy H-4**, udowodniłam, że zastosowanie jodku potasu, jako substancji wspomagającej fitoekstrakcję Hg spowodowało redukcję przyrostu świeżej masy roślin w porównaniu do próby kontrolnej. Fitotoksyczność tego związku została jednak znacząco obniżona poprzez zastosowanie kompostu (w stosunku kompost/gleba 3/1 lub 4/1). Jednakże tendencje spadkowe w ilości otrzymanej świeżej masy roślin po łącznym zastosowaniu kompostu i jodku potasu były nadal zauważalne. Powyższe substancje wspomagające obniżyły toksyczność Hg w stosunku do *L. sativum* L., czego efektem był wzrost biomasy pędów i korzeni roślin bez wizualnych symptomów chorobowych.

Kontynuując prace analizom poddałam tiosiarczan sodu oraz jego połączenie z kompostem. Wybór tego związku był podyktowany doniesieniami literaturowymi, dotyczącymi jego korzystnego wpływu na efektywność fitoekstrakcji Hg z gleby (Wang i wsp., 2011). W **pracy H-5** wykazałam, że wprowadzenie tiosiarczanu sodu do podłoża nie nosiło symptomów fitotoksyczności. Niezależnie od stężenia tiosiarczanu, ilości otrzymanej świeżej biomasy nadziemnej i podziemnej pieprzycy siewnej były porównywalne do prób kontrolnych. Zastosowanie obok tiosiarczanu kompostu, jako składnika podłoża wzrostowego, nie spowodowało zmian w ilości uzyskanej biomasy roślinnej (**praca H-7**). Na tym etapie analiz, podłoża zawierające tiosiarczan sodu oraz łącznie kompost i tiosiarczan sodu, nie zostały wykluczone z prac nad fitoekstrakcją wspomaganą. Poddając ocenie substancje wspomagające fitoekstrakcję, wykonałam również testy fitotoksyczności podłoży zanieczyszczonych Hg i zawierających tiosiarczan sodu lub kompost i tiosiarczan sodu. W powyższych pracach udowodniłam, że pomimo obserwowanej redukcji elongacji organów podziemnych roślin oraz obniżenia biomasy nadziemnej w odniesieniu do prób kontrolnych, zastosowanie powyższych substancji znacząco obniżyło toksyczność Hg.

W pracach związanych z oceną fitotoksyczności substancji wspomagających fitoekstrakcję wykazałam, że:

1. Kompost z zielonych odpadów stymulował wzrost *L. sativum* L., co znalazło odzwierciedlenie we wzmożonej elongacji pędów i korzeni roślin. Wprowadzenie kompostu do zanieczyszczonej Hg gleby przyczyniło się do redukcji toksyczności metalu, o czym świadczył przyrost biomasy pieprzycy siewnej w odniesieniu do roślin uprawianych na niezanieczyszczonej glebie (**praca H-1 i H-4**).
2. Podłoże zawierające kompost oraz kwas cytrynowy nie oddziaływało negatywnie na *L. sativum* L., zapewniając wzrost roślin bez wizualnych objawów chorobowych. Wprowadzenie powyższych substancji do gleby zanieczyszczonej Hg obniżyło toksyczność tego pierwiastka, potwierdzoną brakiem zaburzeń absorpcji wody oraz zwiększoną produktywnością roślin, w odniesieniu do roślin uprawianych na glebie zanieczyszczonej Hg (**praca H-2**).
3. Kwas nitrylotriooctowy wykazał niewielkie oddziaływanie na pieprzycę siewną. Jednak zastosowanie tego związku, jako substancji wspomagającej fitoekstrakcję Hg, wpłynęło na obniżenie fitotoksyczności metalu, co zostało potwierdzone przez utrzymanie indeksów tolerancji *L. sativum* L. na wysokim poziomie (**praca H-3**).

4. Jodek potasu charakteryzował się negatywnym wpływem na przyrost długości pędów i korzeni roślin, co zostało ograniczone przez jego łączne zastosowanie z kompostem. Jednoczesne wprowadzenie do gleby zanieczyszczonej rćcią kompostu i jodku potasu, umożliwiło zbiór wysokiego plonu roślin, w porównaniu do ilości biomasy otrzymanej po uprawie pieprzycy siewnej na glebie zanieczyszczonej Hg (**praca H-4**).
5. Tiosiarczan sodu nie stanowił czynnika obniżającego przyrost biomasy roślinnej. Jego łączne zastosowanie z kompostem spowodowało redukcję negatywnego oddziaływania Hg na *L. sativum* L., charakteryzującą się przyrostem biomasy roślin (**prace H-6 i H-7**).

C2. Podstawowe czynności życiowe i stres oksydacyjny w roślinach poddanych działaniu substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg [H-2; H-3; H-4; H-5; H-7]

Oddziaływanie substancji chemicznych na rośliny jest zróżnicowane i zależy w dużej mierze od rodzaju substancji oraz jej stężenia. Badania dotyczące fizjologiczno-metabolicznych reakcji roślin na te substancje stanowią źródło informacji nie tylko o sposobie ich działania, ale mogą zostać wykorzystane w dalszych pracach, zmierzających do zwiększenia tolerancji roślin. Podjęte przeze mnie badania dotyczyły określenia wpływu substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg na podstawowe czynności życiowe *L. sativum* L. oraz system antyoksydacyjny rośliny. Zgodnie z dotychczasową wiedzą, wprowadzenie substancji wspomagających fitoekstrakcję do zanieczyszczonej gleby, ma na celu zwiększenie biodostępności metali ciężkich. Realizując prace badawcze chciałam dowieść, że substancje wspomagające fitoekstrakcję obniżają również fitotoksyczne oddziaływanie Hg na roślinę i mogą działać stymulująco na jej system antyoksydacyjny, co znajduje odzwierciedlenie we wzroście efektywnego gromadzenia metalu w nadziemnych organach rośliny.

Stres oksydacyjny, występujący w roślinach pod wpływem różnych czynników antropogenicznych, to zaburzenia homeostazy, prowadzące do wzrostu stężeń RFT. Wysokie koncentracje RFT negatywnie oddziałują na funkcje wszystkich organelli komórkowych, co skutkuje przedwczesnym starzeniem się roślin, a w skrajnych przypadkach nawet śmiercią. Jednym z poważniejszych efektów oddziaływania substancji chemicznych na komórki roślinne jest hamowanie procesu fotosyntezy, zachodzące np. na

skutek zaburzeń funkcji błon tylakoidowych. Zaburzenia te są efektem spadku zawartości barwników. Monitorowanie zmian zawartości pigmentów fotosyntetycznych w odpowiedzi na stres środowiskowy stanowi cenną informację dotyczącą uszkodzeń aparatu fotosyntetycznego oraz zmian w zdolności prowadzenia procesu fotosyntezy u poszczególnych gatunków roślin (MacFarlane i Burchett, 2001). W badaniach dotyczących wpływu substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg na podstawowe czynności życiowe *L. sativum* L. ocenie poddałam zmiany zawartości chlorofilu *a* i *b* oraz stopień ich degradacji (praca H-2). Aby wykazać obniżenie fitotoksyczności Hg pod wpływem działania substancji wspomagających, dokonałam porównania zawartości chlorofilu *a* i *b* oraz jego degradacji w roślinach narażonych na Hg oraz łącznie Hg i substancje wspomagające proces. Zgodnie z przewidywaniami, uprawa roślin na podłożu zanieczyszczonym Hg przyczyniła się do spadku zawartości chlorofilu *a* i *b* w liściach *L. sativum* L. Przyczyn tego zjawiska można upatrywać zarówno w hamowaniu syntezy nowych barwników, jak i degradacji już istniejących (Woźny i Goździcka-Józefiak, 2010). W celu określenia stopnia degradacji chlorofilu *a* i *b* wykonałam oznaczenie stężenia feofityny *a* i *b* w liściach pieprzycy siewnej. Wzrost stężenia feofityny *a* i *b* jednoznacznie potwierdził degradację chlorofilu *a* i *b* w liściach roślin poddanych działaniu Hg. Skutkiem degradacji chlorofilu mogą być zaburzenia procesu fotosyntezy oraz zahamowanie produktywności roślin (Alias-Baldrich i wsp., 2015). Wprowadzenie do podłoża wzrostowego zanieczyszczonego Hg łącznie kompostu i kwasu cytrynowego, przyczyniło się do ograniczenia redukcji zawartości chlorofilu *a* i *b* w liściach *L. sativum* L., w odniesieniu do roślin uprawianych na glebie zanieczyszczonej Hg. Jednak spadek zawartości tych barwników asymilacyjnych w odniesieniu do roślin uprawianych na podłożach kontrolnych był nadal zauważalny. Ponadto, zmiana podłoża wzrostowego, poprzez zastosowanie kompostu i kwasu cytrynowego sprzyjała degradacji chlorofilu, o czym świadczył wzrost stężeń feofityny *a* i *b* w roślinach, w odniesieniu do prób kontrolnych.

W powyższych badaniach wykazałam, że zastosowanie kompostu i kwasu cytrynowego obniżyło fitotoksyczność Hg, o czym świadczył wzrost zawartości barwników asymilacyjnych odpowiedzialnych za proces fotosyntezy, w odniesieniu do roślin uprawianych na zanieczyszczonej Hg glebie. Jednak spadek zawartości chlorofilu *a* i *b* oraz wzrost stężeń feofityny *a* i *b* wskazywały na zmiany zachodzące w aparacie fotosyntetycznym rośliny.

W dalszych pracach określiłam także wpływ substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg na wielkość stresu oksydacyjnego w *L. sativum* L. Ze względu na nieodwracalne zmiany, zachodzące w komórkach roślinnych w przypadku stresu spowodowanego czynnikami antropogenicznymi, podjęte przeze mnie badania miały na celu wyznaczenie wybranych bezpośrednich markerów stresu, tj. koncentracji nadtlenu wodoru (H_2O_2) oraz dialdehydu malonianu (MDA) w roślinach poddanych działaniu substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg. Realizacja powyższych celów polegała na wyznaczeniu stężenia H_2O_2 i MDA zarówno w roślinach uprawianych na glebach zanieczyszczonych Hg, glebach wzbogaconych kwasem nitrylotrioctowym, a także łącznie zanieczyszczonych Hg i wzbogaconych kwasem nitrylotrioctowym (**praca H-3**). Rezultaty badań wskazały, że ekspozycja roślin na Hg spowodowała wzrost stężenia H_2O_2 w komórkach, co świadczyło o stresie oksydacyjnym. Stężenie H_2O_2 w roślinach poddanych działaniu kwasu nitrylotrioctowego utrzymywało się na tym samym poziomie, co w przypadku prób kontrolnych. H_2O_2 jest cząsteczką sygnałową, odpowiedzialną za regulację niektórych procesów fizjologicznych, stąd jego obecność w komórkach roślinnych. Zastosowanie kwasu nitrylotrioctowego jako substancji wspomagającej fitoekstrakcję, zmniejszyło fitotoksyczny efekt Hg, o czym świadczyła redukcja stężeń H_2O_2 w roślinach. Podczas ekspozycji roślin na Hg w obecności kwasu nitrylotrioctowego, stężenie H_2O_2 w pędach *L. sativum* L. przedstawiało tendencję wzrostową w stosunku do prób kontrolnych, jednak było o około 22 – 31% niższe w odniesieniu do stężenia H_2O_2 w roślinach uprawianych na glebie zanieczyszczonej Hg.

Nagromadzony w komórkach H_2O_2 może łatwo wchodzić w reakcje redoks z różnymi biomolekułami roślinnymi. Część z tych reakcji ma charakter nieodwracalny i prowadzi do kumulacji chemicznie zmienionych, a tym samym nieaktywnych biomolekuł (Olko i Kujawska, 2011). Nieodwracalne uszkodzenia w komórkach roślinnych, zachodzące przy udziale H_2O_2 , to m.in. nieenzymatyczna peroksydacja lipidów (Gill i Tuteja, 2010). Jest to proces utlenienia lipidów, a w szczególności reszt nienasyconych kwasów tłuszczowych wchodzących w skład wielu lipidów roślinnych. Proces występuje w momencie, w którym stężenie RFT w komórce osiąga wartość powyżej progowej. Efektem tego procesu jest destabilizacja i rozpad lipidów z utworzeniem aldehydów i alkoholi, np. MDA. Wzrost ich stężenia w komórce przejawia się głównie uszkodzeniem błon plazmatycznych (błon komórkowych, błon chloroplastowych i mitochondrialnych) (Olko i Kujawska, 2011). Pojawienie się MDA w komórkach jest uznawane za wskaźnik uszkodzeń oksydacyjnych zachodzących pod wpływem RFT (Cargnelutti i wsp., 2006).

Kontynuując prace nad metaboliczną charakterystyką *L. sativum* L. podjęłam badania, mające na celu określenie wpływu Hg i substancji wspomagających fitoekstrakcję na zawartość MDA w roślinach. Na podstawie rezultatów zaprezentowanych w **pracy H-3** wykazałam, że ekspozycja roślin na Hg przyczyniła się do wzrostu MDA w ich nadziemnych organach, co świadczyło o zachodzącym procesie peroksydacji lipidów. Przy wysokim stężeniu Hg w glebie (100 mg kg^{-1} s.m. gleby) koncentracja MDA była dwukrotnie wyższa w odniesieniu do próby kontrolnej. Aplikacja kwasu nitrylotrioctowego do zanieczyszczonej Hg gleby przyczyniła się do obniżenia ilości MDA w pędach roślin, w odniesieniu do roślin uprawianych na zanieczyszczonej Hg glebie. Stężenie MDA utrzymywało się nadal powyżej poziomu wyznaczonego dla prób kontrolnych.

Obok reakcji nieodwracalnych, H_2O_2 kumulujący się w komórkach roślinnych może również inicjować odwracalne przemiany redoks biomolekuł roślinnych. Przemiany te mają na celu ochronę grup funkcyjnych biomolekuł lub modulację ich aktywności biologicznych (Olko i Kujawska, 2011). Zaburzenia równowagi redoks w komórkach roślinnych, będące efektem kumulacji RFT, mogą być buforowane przez system antyoksydacyjny rośliny. Jego rola polega na wychwytywaniu i wymiataniu RFT, a tym samym zapobieganiu uszkodzeniom komórek na skutek stresu oksydacyjnego (Kopcewicz i Lewak, 2002). Nieenzymatyczne cząsteczki, tworzące system antyoksydacyjny rośliny, to małe związki lipofilowe i hydrofilowe, m.in. kwas askorbinowy (AA), tokoferole (TOC), flawonoidy i fenole oraz karotenoidy (Kopcewicz i Lewak, 2002).

Podjęte przeze mnie badania miały na celu określenie wpływu substancji wspomagających fitoekstrakcję, tj. kwasu nitrylotrioctowego, łącznie kompostu i jodku potasu oraz kompostu i kwasu cytrynowego, na aktywację nieenzymatycznego systemu antyoksydacyjnego. W **pracy H-3** dowiedziałam, że ekspozycja *L. sativum* L. na Hg przyczyniła się do wzrostu stężenia AA w pędach rośliny, w odniesieniu do próby kontrolnej. AA jest znanym akceptorem wolnych rodników, chroniącym chloroplasty przed atakiem RFT (Kopcewicz i Lewak, 2002). Siedmiokrotny wzrost stężenia AA w pędach roślin uprawianych na podłożu zawierającym Hg świadczył o aktywacji nieenzymatycznego systemu antyoksydacyjnego, zaangażowanego w detoksykację komórek roślinnych. Wprowadzenie do zanieczyszczonej gleby kwasu nitrylotrioctowego, jako substancji wspomagającej fitoekstrakcję, przyczyniło się do dalszego wzrostu stężenia AA w pędach *L. sativum* L., w porównaniu do próby kontrolnej. Stężenie AA w nadziemnych organach roślin było jednak kilkukrotnie niższe w odniesieniu do jego

stężenia w roślinach uprawianych na podłożu zanieczyszczonym Hg, co potwierdza obniżenie fitotoksyczności Hg. Zwiększone stężenie AA znalazło odzwierciedlenie we wzroście akumulacji Hg w pędach *L. sativum* L.

Nieenzymatyczny system antyoksydacyjny rośliny tworzą również tokoferole (TOC). Związki te uważane są za jeden z głównych antyoksydantów w biomolekułach roślinnych, a ich rola jest związana z utrzymaniem stabilności błon poprzez usuwanie RFT. W ramach prowadzonych prac, badaniami objęłam zmiany zawartości form α -, β -, γ - oraz δ -tokoferolu w nadziemnych organach *L. sativum* L. uprawianych na glebach zanieczyszczonych Hg i/lub wzbogaconych kwasem nitrylotrioctowym. W badaniach zaprezentowanych w **pracy H-3** wykazałam, że pieprzyca siewna uprawiana na glebie niezanieczyszczonej Hg charakteryzowała się najwyższymi stężeniami izomerów γ - i δ -tokoferolu w swoich pędach (próba kontrolna). Ekspozycja rośliny na Hg sprzyjała koncentracji formy α -tokoferolu, która jest uznawana za formę o najwyższej zdolności antyoksydacyjnej (Gill i Tuteja, 2010). Stężenia pozostałych izomerów tokoferolu (β -, γ - oraz δ -) wykazały również tendencje wzrostowe w roślinach uprawianych na podłożach zanieczyszczonych Hg. Wzrost koncentracji tokoferoli w pędach *L. sativum* L. poddanych działaniu Hg świadczył o aktywacji nieenzymatycznego systemu antyoksydacyjnego i był skorelowany z zawartością H_2O_2 i MDA w roślinie. Zastosowanie kwasu nitrylotrioctowego, jako substancji wspomagającej oczyszczanie gleby zanieczyszczonej Hg, przyczyniło się do wzrostu koncentracji wszystkich oznaczonych form tokoferolu w pędach rośliny w odniesieniu do próby kontrolnej. Jednocześnie analiza porównawcza otrzymanych wyników wykazała, że stężenia izomerów tokoferolu były niższe po ekspozycji łącznie na Hg i kwas nitrylotrioctowy niż w przypadku ekspozycji na Hg. Niezależnie od formy, tokoferole były syntetyzowane w pędach *L. sativum* L. jako przeciwutleniacze w odpowiedzi na stres spowodowany obecnością jonów Hg.

W skład nieenzymatycznego systemu antyoksydacyjnego rośliny wchodzi również związki fenolowe, obejmujące proste fenole oraz flawonoidy, fenolokwasy oraz garbniki (Michalak, 2006). Związki te, należące do metabolitów wtórnych syntetyzowanych w komórkach roślinnych, są uznawane za główną grupę antyoksydantów (Michalak, 2006). Jednym z celów prac prowadzonych nad metaboliczną charakterystyką *L. sativum* L. podczas ekspozycji na substancje wspomagające biologiczne oczyszczanie gleb z Hg była analiza stężeń fenoli i flawonoidów w roślinie. Rezultaty zaprezentowane w **pracy H-4** wskazały na zależność koncentracji fenoli całkowitych i flawonoidów w *L. sativum* L. od rodzaju podłoża wzrostowego do uprawy roślin. Ekspozycja roślin na

Hg przyczyniła się do wzrostu stężenia fenoli i flawonoidów w nadziemnych organach roślin w odniesieniu do prób kontrolnych, co potwierdziło podjęcie przez roślinę działań mających na celu obniżenie toksycznego wpływu Hg na komórki. Przeciwuutleniające działanie fenoli, związane z tworzeniem związków kompleksowych z metalami ciężkim, wpływa znacząco na obniżenie toksyczności metalu w stosunku do rośliny (Iqbal i wsp., 2013). Zmiana podłoża uprawowego, poprzez wprowadzenie do gleby zanieczyszczonej Hg kompostu oraz jodku potasu, nieznacznie wpłynęła na obniżenie stężenia fenoli i flawonoidów w pędach *L. sativum* L. w odniesieniu do upraw prowadzonych na zanieczyszczonej glebie, sugerując stymulujący wpływ substancji wspomagających na nieenzymatyczny system obrony komórek przed RFT. Ponadto, aktywacja systemu antyoksydacyjnego, przejawiająca się wzrostem stężenia fenoli i flawonoidów w pędach *L. sativum* L. miała również związek z akumulacją Hg w komórkach roślinnych, co wykazałam w dalszych badaniach.

Karotenoidy, jako barwniki występujące w plastydach, zarówno w tkankach fotosyntetyzujących, jak i nefotosyntetyzujących, pełnią istotną rolę w detoksykacji RFT. Związki te są najistotniejszymi antyoksydantami zatrzymującymi łańcuchową reakcję peroksydacji lipidów i chronią błony przed dalszymi uszkodzeniami. W ramach badań nad metaboliczną charakterystyką *L. sativum* L. oznaczyłam całkowite stężenie karotenoidów (karotenów i ksantofili) w nadziemnych częściach roślin uprawianych na glebie zanieczyszczonej Hg oraz glebie wzbogaconej łącznie kompostem i kwasem cytrynowym (**praca H-2**). W badaniach wykazałam, że ekspozycja *L. sativum* L. na Hg spowodowała wzrost całkowitego stężenia karotenoidów w roślinie w odniesieniu do próby kontrolnej. Wprowadzenie do gleby substancji wspomagających proces biologicznego oczyszczania gleby, przyczyniło się do dalszego wzrostu całkowitej zawartości karotenoidów w roślinie, w odniesieniu do prób uprawianych na glebie zanieczyszczonej Hg. Wyniki badań wskazały na podjęcie przez roślinę działań, mających na celu ograniczenie wpływu RFT na jej komórki.

Podsumowując ten etap prac należy stwierdzić, że Hg jest metalem sprzyjającym generowaniu H_2O_2 w pędach *L. sativum* L. Wzrost stężenia H_2O_2 w nadziemnych częściach roślin spowodował stres oksydacyjny, przejawiający się wzrostem zawartości MDA w komórkach roślin. W celu ograniczenia negatywnego oddziaływania Hg, roślina aktywowała swój nieenzymatyczny system antyoksydacyjny, charakteryzujący się wzrostem stężeń AA, TOC, fenoli, flawonoidów oraz karotenoidów. Zmiana podłoża do uprawy pieprzycy siewnej poprzez wprowadzenie kwasu nitrylotrioctowego lub łącznie

zastosowanie kompostu i jodku potasu obniżyły fitotoksyczny efekt Hg, o czym świadczyła redukcja stężeń nieenzymatycznych antyoksydantów, tj. AA, TOC oraz fenoli i flawonoidów w *L. sativum* L., w odniesieniu do roślin uprawianych na glebie zanieczyszczonej Hg. Pomimo redukcji stężeń powyższych antyoksydantów, ich poziom był nadal wysoki w odniesieniu do prób kontrolnych, co sugerowało stymulację działania systemu ochrony komórek przed RFT i znalazło odzwierciedlenie w ilości akumulowanej Hg.

W celu oceny wpływu substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg na system obrony antyoksydacyjnej *L. sativum* L. wykonałam analizę enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego rośliny. System ten tworzą m.in. dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza gwajakolowa (POD), peroksydaza askorbinianowa (APX), oraz transferaza glutationowa (GST). Powyższe enzymy stanowią bardzo istotną linię obrony przed RFT, a ich działanie polega na usunięciu szkodliwych RFT z komórek roślinnych lub ich przekształceniu w mniej toksyczne formy (Hameed i wsp., 2011). Enzymy antyoksydacyjne zaangażowane w bezpośrednie usuwanie RFT z komórek roślinnych to SOD, CAT, POD oraz APX, natomiast enzymy biorące udział w reakcjach utleniania i redukcji kwasu askorbinowego lub redukcji glutationu to np. GST. Aktywność SOD, niezależnie od rodzaju metalu, znajdującego się w centrum aktywnym enzymu, jest związana z detoksykacją anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\cdot-}$) do H_2O_2 i O_2 . Tworzący się w wyniku tej reakcji H_2O_2 stanowi substrat dla m.in. CAT, która prowadzi enzymatyczną dysmutację tego związku do H_2O i O_2 , lub APX, której rola sprowadza się do katalizowania reakcji redukcji H_2O_2 do H_2O , przy jednoczesnym utlenianiu askorbinianu (Rucińska-Sobkowiak, 2010). Z kolei GST jest enzymem, który neutralizuje RFT poprzez ich koniugację z glutationem (Czeczot i wsp., 2009).

W badaniach przedstawionych w **pracy H-5** oceniłam wpływ równoczesnego zastosowania kompostu i jodku potasu, jako substancji wspomagających biologiczne oczyszczanie gleby z Hg, na aktywności enzymów tworzących system antyoksydacyjny *L. sativum* L. Pierwszym etapem badań była analiza zmian aktywności SOD, CAT, APX oraz GST pod wpływem substancji wspomagających fitoekstrakcję. Przeprowadzone analizy potwierdziły wcześniejsze obserwacje, dotyczące fitotoksyczności podłoża zawierającego w swoim składzie kompost oraz jodek potasu. Uprawa pieprzycy siewnej na glebie wzbogaconej tymi substancjami spowodowała wzrost aktywności SOD, CAT, APX oraz GST w nadziemnych częściach roślin, w odniesieniu do prób kontrolnych. Zjawisko to było spowodowane obecnością w podłożu jodku potasu, którego negatywne

oddziaływanie na rośliny jest związane z łatwością pobierania tego związku w formie jonowej przez korzenie roślin i utleniania go do I_2 , będącego inhibitorem fotosyntezy (Maćkowiak i Grossl, 1999). Ekspozycja roślin na Hg przyczyniła się do wzrostu aktywności wszystkich oznaczanych enzymów w odniesieniu do prób kontrolnych. Aktywności SOD, CAT, APX oraz GST były funkcją stężenia Hg w glebie. Wzrost aktywności enzymów mógł być związany z rozwojem mechanizmu tolerancji rośliny na Hg. Wprowadzenie kompostu i jodku potasu do gleby zanieczyszczonej Hg, znalazło swoje odzwierciedlenie w stymulacji enzymatycznego systemu obrony antyoksydacyjnej. Pomimo spadku aktywności SOD, APX oraz GST w odniesieniu do roślin uprawianych na glebie zanieczyszczonej Hg, aktywności ww. enzymów utrzymywały się powyżej poziomu obserwowanego dla prób kontrolnych. Jedynie aktywność CAT wzrosła niezależnie od rodzaju zastosowanego podłoża wzrostowego do uprawy pieprzycy siewnej.

Analizy enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego *L. sativum* L. obejmowały również oznaczenie POD w roślinach uprawianych na podłożach niezanieczyszczonych lub zanieczyszczonych Hg, w obecności kompostu i kwasu cytrynowego, jako substancji wspomagających fitoekstrakcję. POD jest enzymem katalizującym reakcje rozkładu nagromadzonego w komórkach H_2O_2 przy udziale gwajakolu. Wzrost aktywności tego enzymu jest odpowiedzią rośliny na wzrastające stężenie H_2O_2 , który z kolei zakłóca m.in. funkcjonowanie błon komórkowych (MacFarlane i Burchett, 2001). Doniesienia literaturowe wskazują, że rola POD ogranicza się jedynie do regulacji poziomu RFT w organizmach roślinnych (Arias-Baldrich i wsp., 2015). Inne badania dowodzą, że wzrost aktywności POD następuje podczas ekspozycji rośliny na czynniki stresowe i utrzymuje się na wysokim poziomie przez cały okres wegetacji rośliny w niekorzystnych warunkach środowiskowych (MacFarlane i Burchett, 2001). Wyniki zaprezentowane w **pracy H-2**, dotyczące oddziaływania kompostu i kwasu cytrynowego na *L. sativum* L. wskazały na brak istotnych różnic w aktywności oznaczanego enzymu w odniesieniu do próby kontrolnej. Aktywność POD wzrosła natomiast pod wpływem ekspozycji *L. sativum* L. na Hg i substancje wspomagające fitoekstrakcję. Wzrost aktywności POD w takich warunkach uprawy roślin świadczył o toksyczności Hg. POD jest nie tylko związana z usuwaniem RFT z komórek. Wysoka aktywność tego enzymu może przyczyniać się do uszkodzeń cząsteczek chlorofilu (MacFarlane i Burchett, 2001). Wyniki analiz, zaprezentowane w pracy H-2 wskazały na wzrost aktywności POD i jednoczesny spadek zawartości chlorofilu *a* i *b*, co negatywnie oddziałuje na roślinę, zaburzając proces fotosyntezy, a w konsekwencji jej wzrost. Stąd wprowadzenie do gleby zanieczyszczonej

Hg, kompostu i kwasu cytrynowego nie spełniło oczekiwań stawianych fitoekstrakcji wspomaganiej.

Podjęte przeze mnie prace dotyczące analizy enzymatycznego systemu obrony antyoksydacyjnej *L. sativum* L. wskazały na istotny wzrost aktywności SOD, CAT, APX, GST oraz POD pod wpływem Hg, stanowiącej zanieczyszczenie gleby. Szybki i duży wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych nie jest jednak korzystny dla roślin. Enzymy te nie tylko usuwają RFT wywołujące stres oksydacyjny, ale mogą również negatywnie oddziaływać na procesy sygnalizacji komórkowej. Stąd utrzymanie odpowiedniego poziomu aktywności enzymów antyoksydacyjnych jest kluczem do prawidłowego i sprawnego funkcjonowania roślin. W przeprowadzonych badaniach dowiodłam, że wprowadzenie kompostu i jodku potasu do gleby zanieczyszczonej Hg przyczyniło się do utrzymania aktywności SOD, CAT, APX oraz GST w *L. sativum* L. na umiarkowanym poziomie, jednak wyższym niż w roślinach uprawianych na niezanieczyszczonej glebie. Jest to zjawisko korzystne, ponieważ zapewnia utrzymanie równowagi pomiędzy tworzeniem i usuwaniem RFT z komórek roślinnych, nie zaburzając jednocześnie sygnalizacji komórkowej. Stymulacja enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego pieprzycy siewnej, osiągnięta poprzez wprowadzenie do zanieczyszczonej gleby kompostu i jodku potasu, wskazała również na podwyższoną tolerancję rośliny na czynniki stanowiące stres środowiskowy i znalazła odzwierciedlenie w stopniu akumulacji Hg.

Ekspozycja roślin na substancje stanowiące czynniki stresu środowiskowego wymusza na nich podjęcie działań przystosowawczych do niekorzystnych warunków bytowania. Mechanizmy detoksykacji komórek roślinnych, obejmujące np. aktywację systemu antyoksydacyjnego są oparte na aktywacji genów kodujących odpowiednie enzymy (Woźny i Goździcka-Józefiak, 2010). Ustalenie, jakim zmianom ulegają białka roślin poddanych oddziaływaniu substancji stanowiących czynniki stresu środowiskowego dostarcza wielu informacji dotyczących adaptacji i tolerancji roślin do niekorzystnych warunków (Weidner, 2015). Przeprowadzone przeze mnie prace badawcze miały na celu poznanie wpływu substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg, tj. kompostu i tiosiarczianu sodu na zmiany ilościowe i jakościowe białek metabolizowanych w *L. sativum* L. Szczegółowe cele **pracy H-7** obejmowały oznaczenie białek ogółem w roślinach poddanych działaniu Hg, substancji wspomagających fitoekstrakcję oraz łącznie Hg i substancji wspomagających fitoekstrakcję. Na podstawie otrzymanych wyników wykazałam, że ekspozycja pieprzycy siewnej na Hg występującą

w zanieczyszczonej glebie spowodowała wzrost zawartości białka ogółem w nadziemnych częściach pieprzycy siewnej, w odniesieniu do prób kontrolnych. Zawartość białka ogółem wzrosła wraz ze wzrostem stężenia Hg w glebie. Zaskakujące wyniki otrzymałam podczas analizy zawartości białka ogółem w nadziemnych częściach *L. sativum* L. uprawianej na podłożu wzrostowym niezanieczyszczonym/zanieczyszczonym Hg oraz zawierającym kompost i tiosiarczan sodu. Wprowadzenie substancji wspomagających fitoekstrakcję do gleby nie wpłynęło w istotny sposób na zawartość białka ogółem w pędach *L. sativum* L. Niezależnie od stopnia zanieczyszczenia podłoża Hg, stężenie białka ogółem utrzymywało się na tym samym poziomie, co w próbach kontrolnych. Brak zmian w ilości białka ogółem w nadziemnych organach pieprzycy siewnej świadczył o braku fitotoksyczności kompostu i tiosiarczanu sodu oraz o jej znaczącej redukcji w przypadku wprowadzenia tych związków do zanieczyszczonej Hg gleby. Kontynuacja badań polegała na przeprowadzeniu elektroforetycznej analizy białek wyizolowanych z pędów roślin uprawianych na niezanieczyszczonej glebie, glebie o różnym stopniu zanieczyszczenia Hg oraz na niezanieczyszczonym/zanieczyszczonym Hg podłożu wzrostowym zawierającym substancje wspomagające fitoekstrakcję. Różnice w akumulacji białek były zauważalne jedynie w przypadku roślin uprawianych na glebie zanieczyszczonej Hg, przy czym koncentracja Hg w podłożu nie miała wpływu na akumulację białek. W związku z powyższym kolejne badania dotyczyły identyfikacji białek o wyraźnie większej akumulacji w pędach *L. sativum* L. poddanych działaniu Hg, w odniesieniu do prób kontrolnych. W powyższych analizach wykazałam, że ekspozycja *L. sativum* L. na Hg przyczyniła się do syntezy białka enzymatycznego metylotransferazy homocysteinowej, którego funkcja związana jest z katalizowaniem końcowego etapu biosyntezy metioniny, będącej m.in. prekursorem fitohormonu etylenu, uczestniczącego w reakcji rośliny na stres. Ekspresja karboksylazy rybulozo-1,5-bisfosfonianu (łańcuchów długiego i krótkiego), katalizującej pierwszy etap Cyklu Calvinia w fazie ciemnej fotosyntezy, w nadziemnych organach pieprzycy siewnej związana była z ekspozycją rośliny na Hg. Ponadto, podczas stresu środowiskowego, wywołanego obecnością tego metalu w glebie *L. sativum* L. syntetyzowała białko sygnałowe 14-3-3, biorące udział w fosforylacji, pełniące istotną rolę w odpowiedzi rośliny na stres abiotyczny, oraz białko rybosomalne 40S, którego funkcja związana jest z intensywną translacją (Groppa i Benavides, 2008; Nicolardi i wsp., 2012).

W badaniach zaprezentowanych w pracy H-7 dowiodłam, że zastosowanie kompostu i tiosiarczanu sodu, jako komponentów podłoża wzrostowego, nie oddziaływało

na ilość białka ogółem wytworzonego w pieprzycy siewnej. Pomimo braku wpływu substancji wspomagających fitoekstrakcję na zawartość białka ogółem w roślinie, nie można jednoznacznie udzielić odpowiedzi na pytanie o fitotoksyczność ww. substancji. Istnieje bowiem możliwość metabolizowania innych, niebiałkowych substancji warunkujących prawidłowo zachodzące procesy życiowe rośliny w niekorzystnych warunkach środowiskowych. W podjętych badaniach wykazałam, że jedynym czynnikiem sprzyjającym zmianom w ilości białka ogółem w roślinie była Hg. Określenie ilościowych i jakościowych zmian białek metabolizowanych podczas ekspozycji rośliny na Hg miało charakter poznawczy i przyczyniło się do lepszego zrozumienia fitotoksyczności tego metalu w odniesieniu do *L. sativum* L.

Podsumowując rezultaty badań, dotyczących oceny podstawowych czynności życiowych oraz stresu oksydacyjnego *L. sativum* L. pod wpływem substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg mogę stwierdzić, że:

1. Wprowadzenie do zanieczyszczonej Hg gleby kompostu i kwasu cytrynowego sprzyjało obniżeniu fitotoksyczności Hg. Obserwowany spadek zawartości chlorofilu *a* i *b* oraz wzrost stopnia jego degradacji, potwierdzony wzrostem stężenia feofityny *a* i *b* w liściach *L. sativum* L., w odniesieniu do prób kontrolnych (rośliny uprawiane na niezanieczyszczonej glebie) był zjawiskiem niekorzystnym, świadczącym o możliwych zaburzeniach procesu fotosyntezy. Wysoka aktywność POD, zaobserwowana w pędach rośliny uprawianej na zanieczyszczonej glebie w obecności substancji wspomagających fitoekstrakcję, mogła być związana z obroną antyoksydacyjną, lub przyczyniać się do uszkodzeń chlorofilu oraz zaburzeń procesów sygnalizacji komórkowej. Pomimo obserwowanego wzrostu karotenoidów, stanowiących element nieenzymatycznego systemu obrony antyoksydacyjnej rośliny, podłoże zawierające w swoim składzie, obok zanieczyszczonej Hg gleby, kompost i kwas cytrynowy negatywnie oddziaływało na aparat fotosyntetyczny *L. sativum* L. (**praca H-2**).
2. Aplikacja kwasu nitrylotrioctowego do zanieczyszczonej Hg gleby, spowodowała obniżenie ilości powstającego H_2O_2 i redukcję peroksydacji lipidów, potwierdzoną zmniejszeniem stężenia MDA w pędach rośliny, w odniesieniu do roślin uprawianych na glebie zanieczyszczonej Hg. Jednocześnie zaobserwowany umiarkowany wzrost stężeń AA oraz α -tokoferolu w pędach *L. sativum* L. poddanych działaniu Hg i kwasu nitrylotrioctowego świadczył o aktywacji nieenzymatycznego systemu antyoksydacyjnego rośliny (**praca H-3**).

3. Łączne zastosowanie kompostu i jodku potasu, jako substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg, obniżyło fitotoksyczny efekt Hg, o czym świadczyła redukcja stężeń fenoli całkowitych i flawonoidów oraz aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, APX oraz GST) w pędach rośliny, w odniesieniu do roślin uprawianych na zanieczyszczonej Hg glebie. Pomimo zaobserwowanej redukcji stężeń ww. antyoksydantów, zastosowanie powyższych substancji przyczyniło się do zmian w metabolizmie rośliny, które umożliwiły jej przystosowanie do niekorzystnych warunków bytowania. W wyniku stymulacji systemu obrony antyoksydacyjnej pieprzycy siewnej, stężenia fenoli całkowitych i flawonoidów oraz aktywności enzymów antyoksydacyjnych utrzymywały się na poziomie przekraczającym wartości otrzymane dla prób kontrolnych (**prace H-4 i H-5**).
4. Badania dotyczące zmian proteomu *L. sativum* L. pod wpływem aplikacji kompostu i tiosiarczynu do zanieczyszczonej Hg gleby, nie wykazały zmian ilościowych i jakościowych białek roślinnych. Otrzymane wyniki nie pozwoliły jednak na ocenę wpływu zastosowanych substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg na stymulację układu obrony antyoksydacyjnej. Zmiany w proteomie rośliny były obserwowane jedynie w przypadku jej ekspozycji na Hg. Przeprowadzona szczegółowa charakterystyka białek *L. sativum* L. indukowanych podczas stresu środowiskowego spowodowanego występowaniem Hg w podłożu miała charakter poznawczy (**praca H-7**).

C3. Ocena efektywności procesów oczyszczania gleb z Hg wraz z określeniem praktycznych aspektów zastosowania wybranych substancji wspomagających fitoekstrakcję [H-1; H-2; H-3; H-4; H-5; H-6; H-7; H-8]

Akumulacja metali ciężkich przez rośliny zależy od gatunku, a czasami nawet od odmiany samej rośliny oraz jej stadium rozwoju. Ponadto, wpływ na ten proces mają czynniki glebowe, np. odczyn gleby, zawartość substancji organicznej, potencjał redoks, czy właściwości sorpcyjne (Gruca-Królikowska i Waclawek, 2006). Właściwości glebowe decydują o mobilności i biodostępności metali ciężkich dla roślin. Biodostępność z kolei, jest kluczowym czynnikiem, wpływającym na efektywność fitoekstrakcji. Zwiększenie biodostępności metali może być osiągnięte poprzez wprowadzenie substancji chemicznych do gleby, których rola polega na tworzeniu rozpuszczalnych w wodzie związków

kompleksowych z metalami oraz zwiększeniu ich desorpcji (Ali i wsp., 2013). Działanie pewnych substancji niesie jednak ryzyko wymywania metali i ich przenikania do wód gruntowych (Grobelak i wsp., 2010). Ponadto, zastosowanie substancji wspomagających może generować wysokie koszty, zwłaszcza w procesach prowadzonych na dużą skalę, co stanowi istotne ograniczenie metody.

Prace dotyczące oceny efektywności fitoekstrakcji Hg z gleby przez *L. sativum* L. oparłam o analizy akumulacji metalu przez roślinę, które posłużyły do wyznaczenia wskaźników efektywności procesu. W badaniach zaprezentowanych w **pracach H-3, H-4 i H-6** wykazałam, że całkowite stężenie Hg w *L. sativum* L. stanowiło 10-14% ogólnego stężenia Hg w glebie, w zależności od stopnia jej zanieczyszczenia. Ponadto, głównym miejscem akumulacji Hg były korzenie roślin. Ograniczona akumulacja Hg wpłynęła na niską efektywność usuwania Hg z gleby, potwierdzoną niskimi wartościami wskaźników AF, BCF oraz TF. Przeprowadzone prace badawcze wykazały potencjał pieprzycy siewnej do akumulacji Hg z gleby, zatem jej możliwe zastosowanie w indukowanej fitoekstrakcji.

Celem badań było zwiększenie koncentracji Hg w pędach rośliny po zastosowaniu substancji wspomagających proces. Analizy dotyczyły oceny wpływu kompostu lub/i kwasu cytrynowego, kwasu nitrylotrioctowego, jodku potasu oraz tiosiarczanu sodu na efektywność procesu. Ponadto ocenie poddałam również praktyczne aspekty stosowania powyższych substancji, obejmujące zarówno ryzyko związane z ich wprowadzeniem do środowiska, jak również koszty ich zastosowania. Uwzględniając wpływ substancji chemicznych na fizjologiczne i metaboliczne reakcje rośliny, akumulację Hg oraz czynniki ograniczające ich stosowanie w środowisku dokonałam wyboru i rekomendacji najlepszej metody oczyszczania Hg z gleby.

W **pracy H-1** wykazałam, że wprowadzenie do zanieczyszczonej gleby kompostu, istotnie zmieniło parametry fizyko-chemiczne podłoża, czego efektem był zwiększony poziom akumulacji Hg w pędach *L. sativum* L. Efektywność procesu, oceniona na podstawie BCF była wysoka i zależała od ilości użytego w doświadczeniu kompostu (stosunek wagowy gleba/kompost 2/1; 3/1 lub 4/1) oraz stopnia zanieczyszczenia gleby Hg. Procesem gwarantującym efektywne usuwanie Hg z gleby przez *L. sativum* L. był proces prowadzony z udziałem kompostu w stosunku wagowym gleba/kompost 3/1, co zostało wykorzystane w kolejnych pracach badawczych.

Wprowadzenie substancji wspomagających fitoekstrakcję może sprzyjać rozprzestrzenianiu się zanieczyszczeń na skutek zwiększonej wymywalności metalu. Ocena kompostu, jako substancji wspomagającej proces usuwania Hg, została również

oparta o testy wymywalności, przeprowadzone w środowisku obojętnym oraz kwasowym. W badaniach wykazałam, że zastosowanie tego nawozu organicznego ograniczyło wymywalność Hg z podłoża wzrostowego, niezależnie od środowiska prowadzonej ekstrakcji, w odniesieniu do wymywalności Hg z gleby (**praca H-1**). Zastosowanie kompostu w fitoekstrakcji wspomaganą sprzyjało zwiększeniu akumulacji Hg przez *L. sativum* L. Wysoka translokacja metalu oraz jego magazynowanie w pędach roślin były wskaźnikami wysokiej efektywności procesu. Stymulacja przyrostu biomasy roślinnej, wzmożona elongacja pędów i korzeni pieprzycy siewnej oraz obniżenie fitotoksyczności Hg osiągnięte po zastosowaniu kompostu pokazały korzyści płynące z jego wykorzystania. Ponadto ograniczona wymywalność Hg oraz niskie koszty stanowiły podstawę do rekomendacji fitoekstrakcji wspomaganą kompostem. Jedynym ograniczeniem stosowania tego naturalnego nawozu może być tworzenie połączeń metalu z kwasami humusowymi, stanowiącymi główny składnik substancji organicznej kompostu. Długofalowym efektem może być obniżenie rozpuszczalności metalu w roztworze glebowym, i dalej redukcja jego biodostępności. Stąd kolejne moje badania obejmowały łączne zastosowanie kompostu oraz związków chemicznych, wpływających na rozpuszczalność Hg w roztworze glebowym.

Kontynuacja badań dotyczyła oceny skuteczności oczyszczania gleb z Hg wspomaganego jednoczesną aplikacją kompostu i kwasu cytrynowego. W badaniach zaprezentowanych w **pracy H-2** wykazałam, że zmiana warunków uprawy *L. sativum* L. poprzez wprowadzenie ww. substancji przyczyniła się do wzrostu akumulacji Hg w pieprzycy siewnej. Efektywność fitoekstrakcji wspomaganą ww. substancjami, oceniona przy pomocy BCF, wzrosła 12-krotnie w odniesieniu do fitoekstrakcji naturalnej, prowadzonej bez substancji wspomagających. Kompleksowa ocena kompostu i kwasu cytrynowego wykazała jednak negatywny wpływ na *L. sativum* L., charakteryzujący się zmianami w zawartości barwników asymilacyjnych oraz wzrostem aktywności POD. Pomimo aktywacji systemu antyoksydacyjnego rośliny (wzrost karotenoidów), degradacja chlorofilu świadczyła o uszkodzeniach aparatu fotosyntetycznego rośliny. Niezależnie od wykazanych zalet metody, tj. wysokiej efektywności usuwania Hg z gleby oraz niskich nakładów finansowych potrzebnych do zastosowania powyższych substancji w środowisku, proces zachodzący z udziałem kompostu i kwasu cytrynowego wymaga dalszych analiz.

Kolejne badania były związane z oceną skuteczności usuwania Hg z gleby wspomaganą kwasem nitrylotrioctowym. W **pracy H-3** dowiodłam, że zastosowanie tego

związku w fitoekstrakcji Hg z gleby sprzyjało wzrostowi akumulacji metalu w *L. sativum* L. Kwas nitrylotriooctowy wykazuje właściwości kompleksujące w stosunku do metali ciężkich występujących w środowisku, co ma wpływ zarówno na zwiększenie ich biodostępności, jak i na redukcję toksyczności (Xie i wsp., 2015). Efektem zastosowania tej substancji wspomagającej fitoekstrakcję był cztero- i sześciokrotny wzrost akumulacji Hg w pędach roślin, zależnie od stężenia Hg w glebie. Pomimo wysokiej efektywności prowadzonego procesu (wzrost BCF i TF), rekomendacja powyższej metody oczyszczania nie jest możliwa na tym etapie badań. Ograniczony zakres danych ekotoksykologicznych dotyczących wpływu kwasu nitrylotriooctowego na rośliny lądowe oraz organizmy glebowe utrudnia przeprowadzenie rzetelnej analizy tej substancji. Dalszych badań wymaga również określenie poziomu wymywalności Hg z gleby po zastosowaniu kwasu nitrylotriooctowego. Ponadto ograniczeniem stosowania tej metody może być czynnik ekonomiczny. Wysokie nakłady finansowe, związane z aplikacją kwasu nitrylotriooctowego do zanieczyszczonej Hg gleby w stężeniu wykazanym w moich badaniach, mogą sprawić, że metoda będzie nierentowna.

Prace nad fitoekstrakcją dotyczyły również oceny możliwości zastosowania łącznie kompostu i jodku potasu do oczyszczania Hg z gleby przy udziale pieprzycy siewnej. W **pracy H-4** wykazałam, że zastosowanie powyższych substancji korzystnie wpłynęło na stopień magazynowania Hg w *L. sativum* L. Po zastosowaniu kompostu (w stosunku wagowym gleba/kompost 3/1) i jodku potasu, wskaźnik efektywności akumulacji Hg (AF) wzrósł o ponad 65% w odniesieniu do procesu prowadzonego bez udziału substancji wspomagających. Natomiast translokacja Hg do pędów rośliny, oceniona na podstawie TF wzrosła 19-krotnie w odniesieniu do procesu naturalnej fitoekstrakcji. W ramach prac nad fitoekstrakcją wspomaganą kompostem i jodkiem potasu wykonałam również testy wymywalności. Nieopublikowane dotychczas wyniki wskazały na obniżoną wymywalność Hg z gleby po wprowadzeniu do niej ww. substancji wspomagających. Potwierdziło to skuteczność metody oraz obniżone ryzyko transferu Hg przy zastosowaniu powyższych substancji, jako składników podłoża wzrostowego. Wysoka efektywność fitoekstrakcji oraz niska wymywalność Hg wskazały na skuteczność metody, która została objęta ochroną patentową PAT.227108 (**H-8**).

Opatentowana metoda fitoremediacji gleb zachodzącej przy udziale *L. sativum* L., wspomagana aplikacją kompostu i jodku potasu, stanowiła podstawę do dalszych badań. Badania podjęte w **pracy H-5** polegały na kilkukrotnym powtórzeniu fitoekstrakcji w celu oczyszczenia gleby z Hg. Zastosowanie substancji wspomagających oraz roślin

o krótkim okresie wegetacji, dały możliwość znacznej redukcji poziomu zanieczyszczenia w glebie, przy sześciokrotnym powtórzeniu procesu. Efektywność powtórzonej fitoekstrakcji, oceniona na podstawie AF i BCF, była wysoka. Ponadto, jej powtórzenie w glebie o zanieczyszczeniu początkowym wynoszącym $10 \text{ mg Hg kg}^{-1} \text{ s.m.}$, przyczyniło się do obniżenia stężenia Hg w glebie do wartości dopuszczalnych, określonych na podstawie Rozporządzenia Ministra Środowiska z 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleb oraz standardów jakości ziemi (Dz. U. nr 165, poz. 1359). Dla gleby o wysokim stopniu zanieczyszczenia, wynoszącym $100 \text{ mg Hg kg}^{-1} \text{ s.m.}$ gleby, 6-krotne powtórzenie fitoekstrakcji przyczyniło się do redukcji zanieczyszczenia o około 60%.

Wykonane przeze mnie badania stanowiły podstawę do oceny kompostu i jodku potasu, jako substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg. Analizując fizjologiczną i metaboliczną reakcję *L. sativum* L. na powyższe substancje, zauważyłam ich stymulujący wpływ na system obrony antyoksydacyjnej rośliny. Wzrost aktywności enzymatycznych i stężeń nieenzymatycznych antyoksydantów podczas uprawy roślin na podłożu zawierającym Hg oraz kompost i jodek potasu, przyczyniły się do obniżenia RFT w komórkach, co znalazło odzwierciedlenie w zwiększonej akumulacji Hg. Wysoka akumulacja Hg w pędach roślin spowodowała wzrost wskaźników efektywności procesu. Testy wymywalności potwierdziły ograniczone ryzyko rozprzestrzeniania się Hg po wprowadzeniu do gleby kompostu i jodku potasu. Również aspekt ekonomiczny nie stanowi ograniczenia metody. Kompost z zielonych odpadów jest tanim nawozem organicznym, natomiast niskie stężenia zastosowanego jodku potasu stwarzają możliwość zastosowania metody. Powyższe względy stanowią podstawę do rekomendacji metody, jako skutecznego narzędzia w biologicznym oczyszczaniu gleb z Hg przy udziale *L. sativum* L.

Kolejnymi badaniami objęłam ocenę efektywności fitoekstrakcji Hg wspomaganą tiosiarczanem sodu. W **pracy H-6** wykazałam, że wprowadzenie tiosiarczanu do zanieczyszczonej Hg gleby spowodowało dwu-, a w niektórych wariantach prowadzonych badań, nawet trzykrotny wzrost całkowitej koncentracji Hg w roślinie, w odniesieniu do prób kontrolnych. Niezależnie od stężenia, zastosowanie tej substancji wspomagającej sprzyjało zwiększeniu rozpuszczalności Hg w roztworze glebowym, która tworząc związki kompleksowe np. typu $\text{Hg-S}_2\text{O}_3$ była łatwiej pobierana i magazynowana w roślinach. Na szczególną uwagę zasługuje wzrost stężenia Hg w nadziemnych organach *L. sativum* L., wynoszący blisko 2400% stężenia Hg w próbach odniesienia (rośliny

uprawiane na glebie zanieczyszczonej Hg bez tiosiarczanu). Wzrost akumulacji Hg znalazł również odzwierciedlenie we wzroście wskaźników efektywności fitoekstrakcji (TF, BCF). Wysoka efektywność procesu nasunęła pytanie o możliwość transferu Hg z gleby do wód podziemnych na skutek zastosowania tiosiarczanu sodu. Przeprowadzone przeze mnie testy wykazały zwiększoną wymywalność Hg z gleby po wprowadzeniu do niej tiosiarczanu, co stanowi realne ograniczenie metody. Pomimo braku negatywnego oddziaływania tiosiarczanu sodu na przyrost biomasy *L. sativum* L. oraz wysokiej efektywności oczyszczania gleby z Hg po jego zastosowaniu, ryzyko rozprzestrzeniania Hg, ocenione na podstawie wymywalności było na tyle duże, że powyższa metoda została wykluczona z dalszych badań.

Wysoka efektywność fitoekstrakcji, osiągnięta po zastosowaniu tiosiarczanu, skłoniła mnie do oceny możliwości zastosowania tego związku łącznie z kompostem w fitoekstrakcji indukowanej. W **pracy H-7** wykazałam, że zastosowanie kompostu i tiosiarczanu, jako substancji wspomagających, znacząco wpłynęło na akumulację Hg z gleby. Blisko 3-krotny wzrost całkowitego stężenia Hg w *L. sativum* L. oraz 10-krotny wzrost translokacji i akumulacji Hg w pędach, w porównaniu do prób kontrolnych, wskazał na wysoką efektywność procesu, co znalazło potwierdzenie we wskaźnikach BCF i AF. Brak jednoznacznej odpowiedzi dotyczącej wpływu kompostu i tiosiarczanu sodu na fizjologiczne i metaboliczne reakcje *L. sativum* L., a także ograniczona wiedza na temat ryzyka środowiskowego wynikającego z wprowadzenia powyższych substancji do zanieczyszczonej gleby uniemożliwia rekomendację metody na tym etapie badań.

Podsumowując powyższy etap badań mogę stwierdzić, że:

1. Kompost z zielonych opadów stanowił substancję wpływającą na efektywność fitoekstrakcji Hg z gleby. Ograniczone ryzyko transferu Hg po jego zastosowaniu oraz brak negatywnego wpływu na *L. sativum* L. stanowiły podstawę jego zastosowania w dalszych pracach badawczych (**praca H-1**).
2. Łączne zastosowanie kompostu i kwasu cytrynowego pomimo wzrostu efektywności procesu, sprzyjało indukowaniu negatywnych zmian w aparacie fotosyntetycznym pieprzycy siewnej. Ograniczony zakres danych, dotyczących rozprzestrzeniania się zanieczyszczenia pod wpływem ww. substancji wspomagających fitoekstrakcję utrudnia rekomendację metody na tym etapie badań (**praca H-2**).
3. Wprowadzenie kwasu nitrylotrioctowego do zanieczyszczonej Hg gleby, może być ograniczone wysokimi kosztami prowadzonego procesu. Pomimo obniżenia

- generacji H_2O_2 , MDA, zmian zawartości nieenzymatycznych antyoksydantów (AA, tokoferole) oraz wzrostu efektywnego gromadzenia Hg w pędach *L. sativum* L., prace dotyczące fitoekstrakcji wspomaganej kwasem nitrylotioctowym powinny być kontynuowane przed rekomendacją powyższej metody (**praca H-3**).
4. Użycie kompostu i jodku potasu w fitoekstrakcji Hg z gleby przy udziale pieprzycy siewnej sprzyja wzrostowi efektywności procesu. Stymulacja systemu obrony antyoksydacyjnej rośliny oraz niskie koszty fitoekstrakcji stwarzają możliwość zastosowania metody na szeroką skalę. Ponadto kilkukrotne powtórzenie procesu daje gwarancję znacznej redukcji poziomu zanieczyszczeń w glebie (**prace H-4; H-5** oraz **patent H-8**).
 5. Tiosiarczan sodu stanowi substancję pozytywnie wpływającą na efektywność procesu, ale sprzyja zwiększonej wymywalności Hg z gleby. Jego łączne zastosowanie z kompostem powoduje wzrost efektywnego gromadzenia metalu w pędach *L. sativum* L. Ograniczone dane w zakresie wpływu kompostu i tiosiarczanu na metaboliczne reakcje rośliny oraz wymywalność Hg, stanowią podstawę do kontynuacji badań w tym zakresie (**prace H-6 i H-7**).

Przedstawione do oceny badania stanowiły analizy substancji wspomagających fitoekstrakcję, obejmujące zarówno poznanie ich wpływu na fizjologiczne i metaboliczne reakcje *L. sativum* L., jak również ocenę skuteczności usuwania Hg z gleby przy ich udziale. W powyższych pracach wskazałam zarówno korzyści, jak i ograniczenia, płynące z wprowadzenia substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg do zanieczyszczonej gleby. Fitoekstrakcja jest techniką, której zastosowanie *in situ* wymaga szczegółowych badań, obejmujących nie tylko wpływ substancji wspomagających na roślinę oraz efektywność procesu, ale również wskazujących na generację odpadów oraz możliwość włączenia zanieczyszczeń do łańcucha troficznego. Istotą fitoekstrakcji jest gromadzenie metalu w nadziemnych organach roślin wyższych, w celu łatwego ich usuwania z biomasa roślinną. W przypadku fitoekstrakcji Hg z gleby, powstaje odpad niebezpieczny, który wymaga dalszych zabiegów ograniczenia jego negatywnego wpływu na środowisko. Metody zagospodarowania odpadu niebezpiecznego obejmują m.in. odzysk Hg oraz składowanie pozostałości po odzysku metalu. Proces taki wymaga jednak dużych nakładów finansowych i jest stosowany najczęściej do odpadów zawierających duże stężenia Hg (np. lampy rtęciowe). W ramach prac nad technologią usuwania Hg z gleby przy udziale *L. sativum* L. prowadzę obecnie badania, dotyczące możliwości zestalania

suchej masy roślin zawierających Hg z cementem portlandzkim. Powyższe analizy, prowadzone we współpracy z dr hab. Elżbietą Sobiecką z Instytutu Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej, mają na celu przeprowadzenie niebezpiecznego odpadu zawierającego Hg, w stabilny pod względem fizyko-chemicznym odpad, który będzie można bezpiecznie deponować na składowiskach odpadów.

Kolejny czynnik, który należy wziąć pod uwagę przy zastosowaniu technologii oczyszczania gleb z Hg w środowisku naturalnym, to możliwość włączenia zanieczyszczeń do łańcucha troficznego przy fitoekstrakcji prowadzonej przy udziale roślin konsumpcyjnych lub pastewnych. Ze względu na brak roślin hiperakumulujących Hg, obecne prace nad fitoekstrakcją tego metalu polegają na wykorzystaniu do usuwania zanieczyszczeń gatunków roślin jadalnych. Jest to spowodowane zarówno znajomością wymagań klimatyczno-glebowych poszczególnych gatunków roślin, jak również łatwością uprawy. Pomimo stosowania ww. roślin, ryzyko związane z wprowadzeniem zanieczyszczeń do łańcucha pokarmowego jest ograniczone, ze względu na wyłączenie z użytkowania i produkcji rolnej terenów, na których występuje zanieczyszczenie. Ponadto, oczyszczanie gleby z zastosowaniem gatunków roślin konsumpcyjnych, jest objęte stałym nadzorem, mającym na celu monitorowanie stanu zanieczyszczenia oraz możliwej drogi jego rozprzestrzenienia. Są to na tyle skuteczne działania, że ryzyko wprowadzenia zanieczyszczenia do łańcucha pokarmowego jest zminimalizowane.

Wzbogacenie gleb Polski w Hg jest obserwowane głównie na terenach zurbanizowanych i pochodzi najczęściej ze źródeł antropogenicznych. Punktowe anomalie wysokich koncentracji Hg w glebach Łodzi (stężenie maksymalne $5,82 \text{ mg kg}^{-1}$), Poznania (712 mg kg^{-1}), czy Warszawy ($10,78 \text{ mg kg}^{-1}$) związane są najczęściej z lokalizacją zakładów przemysłowych lub obszarami dawnych składowisk odpadów (Pasieczna, 2012). Zgodnie z aktualnie obowiązującymi regulacjami prawnymi tereny te powinny być poddane rekultywacji. Stwarza to możliwość praktycznego zastosowania rekomendowanej przeze mnie metody. Obecnie poszukuję odbiorców opatentowanej metody usuwania Hg z gleby przy udziale *L. sativum* L. wspomaganą kompostem i jodkiem potasu.

Za najważniejsze osiągnięcia omówionych badań zawartych w cyklu publikacji (H-1 – H-8) uważam:

1. Wykazanie braku fitotoksycznego wpływu substancji wspomagających fitoekstrakcję Hg z gleby, tj. kompostu z zielonych odpadów lub/i kwasu cytrynowego oraz tiosiarczanu sodu na *L. sativum* L. oraz redukcję negatywnego oddziaływania jodku potasu po jego łącznym zastosowaniu z kompostem. Zastosowanie powyższych substancji wspomagających biologiczne oczyszczanie gleb przyczyniło się do redukcji negatywnego oddziaływania Hg na rośliny (wzrost biomasy oraz elongacja pędów i korzeni roślin).
2. Wykazanie aktywacji systemu obrony antyoksydacyjnej pieprzycy siewnej pod wpływem Hg i substancji wspomagających fitoekstrakcję, charakteryzującego się zmianami stężeń nieenzymatycznych antyoksydantów (kwasu askorbinowego, α -tokoferolu, fenoli całkowitych, flawonoidów oraz karotenoidów) oraz wzmożoną aktywnością enzymów antyoksydacyjnych (katalazy, peroksydazy askorbinianowej, dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy gwajakolowej oraz transferazy glutationowej).
3. Udowodnienie związku pomiędzy wzrostem aktywności systemu obrony antyoksydacyjnej rośliny oraz zwiększoną akumulacją Hg w pędach *L. sativum* L., zachodzącą pod wpływem substancji wspomagających fitoekstrakcję, m.in. łączne zastosowanie kompostu i jodku potasu.
4. Wykazanie oraz eliminację metod z zastosowaniem substancji wspomagających fitoekstrakcję o negatywnym wpływie na roślinę lub/oraz stwarzających ryzyko transferu zanieczyszczeń do innych ekosystemów, a także nieekonomicznych.
5. Opracowanie skutecznej metody fitoekstrakcji Hg z gleby prowadzonej przez *L. sativum* L. wspomaganej łącznie kompostem i jodkiem potasu (patent).

Literatura:

- Ali H., Khan E., Sajad M.A., 2013. *Chemosphere* 91, 869–881.
- Bourguignon D., 2017. *European Parliamentary Research Service, Briefing EU Legislation in Progress*, 1-8.
- Cargnelutti D., Tabaldi L.A., Spanevello R.M., et al., 2006. *Chemosphere* 65, 999-1006.
- Catherine L.F., Navab M., 2014. *Journal of Scientific Research and Development* 1, 1-6.
- Czeczot H., Skrzycki M., Majewska M., Podsiad M., Karlik W. et al. (2009) *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna XLII*, 1167-1176.
- Czora M., Czech T., 2013. *EPISTEME* 9, 1-13.
- EEA Report, 2016. European Union emission inventory report 1990-2014 under the UNECE Convention on Long-range Transboundary Air Pollution (LRTAP). Report 16/2016.
- Evangelou M.W.H., Ebel M., Shaeffer A., 2007. *Chemosphere* 68, 984-1003.
- Gill S.S., Tuteja N., 2010. *Plant Physiology and Biochemistry* 48, 909-930.
- Grobelak A., Kacprzak M., Fijałkowski K., 2010. *Journal of Ecology and Health* 14, 276-280.
- Groppa M.D., Benavides M.P., 2008. *Recent advances. Amino Acids* 34, 35–45.
- Hameed A., Qadri T.N., Mahmooduzzafar, Siddigi T.O., Iqbal M., 2011. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 23, 45-55.
- Iqbal S., Younas U., Chan K.W., et al., 2013. *Chemosphere* 91, 1196-1202.
- Jahanbakhshi S., Rezaei M.R., Sayyari-Zahan M.H., 2015. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources* 18, 12-17.
- Jeziński P., Kawalko D., Kaszubkiewicz J., Ochman D., 2011. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 48, 276-286.
- Joško I., Oleszczuk P., 2013. *Chemosphere* 92, 91-99.
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 2001. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*; PWN Warszawa, 170-175.
- Kopcewicz J., Lewak S., 2002. *Fizjologia roślin*. PWN Warszawa, 613-631.
- MacFarlane G.R., Burchett M.D., 2001. *Marine Pollution Bulletin* 42, 233–240.
- Maćkowiak C.L., Grossl P.R. (1999) *Plant and Soil* 212, 135-143.
- Mahar A., Wang P., Ali A., Awasthi M.K., et al., 2016. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 126, 111-121.
- Malar S., Sahi S.V., Favas P.J.C., Venkatachalam P., 2015. *International Journal of Environmental Science and Technology* 12, 3273-3282.
- Marrugo-Negrette J., Durango-Hernandez J., Pinedo-Hernandez J., Enamorado-Montes G., Diez S., 2016. *Journal of Environmental Sciences* 48, 120-125.
- Michalak A., 2006. *Polish Journal of Environmental Studies* 15, 523-530.
- Mojiri A., Aziz H.A., Aziz S.Q., Selamat M.R.B., Gholami A., Aboutorab M., 2013. *Global NEST Journal* 15, 69-75.

- Moreno F.N., Anderson C.W.N., Steward R.B., Robinson B.H., Ghomshei M., Meeck J.A., 2005. *New Phytologist* 166, 445-454.
- Nehdi I.A., Sbihi H., Tan C.P., Al-Resayes S.I., 2012. *Bioresource Technology* 126, 193-197.
- Nicolardi V., Cai G., Parrotta L., et al., 2012. *Environmental Pollution* 160,1-10.
- OECD, (1984). Test Guidelines 477. Genetic Toxicology. OECD Guidelines for Testing of Chemicals.
- Olko A., Kujawska M., 2014. *Kosmos* 60, 161-171.
- Ottesen R.T., Brike M., Finne T.E., Gosar M., Locutura J., et al., 2013. *Applied Geochemistry* 33, 1-12.
- Pasieczna A., 2012. *Przegląd Geologiczny* 60, 46-58.
- Pasieczna A., 2014. *Biuletyn Państwowego Instytutu Geologicznego* 457, 69-86.
- Rodriguez L., Rincon J., Asencio I., Rodriguez-Castellanos L., 2007. *International Journal of Phytoremediation* 9, 1-13.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dn. 09.09.2002 w sprawie standardów jakości gleby i standardów jakości ziemi. Dz.U.02.165.1359.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady UE 2017/852 z dn. 17 maja 2017 w sprawie rtęci oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 1102/2008.
- Rucińska-Sobkowiak R. (2010) *Postępy Biochemii* 56, 191-200.
- Singh S., Fulzele D.P., Kaushik C.P., 2016. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 132, 140-144.
- Smolińska B., 2010. *Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej* 1081/74, 121-136.
- Smolińska B., Cedzyńska K., 2006. *Fresenius Environmental Bulletin* 15, 583-587.
- Smolińska B., Cedzyńska K., 2007. *Chemosphere* 69, 1388-1395.
- Smolińska B., Cedzyńska K., 2009. *Fresenius Environmental Bulletin* 18, 1154-1160.
- Wadhwa S., Panwar M.S., Agrawal A., et al., 2012. *Advance Research in Pharmaceuticals and Biologicals* 2, 316-323.
- Wang J., Xia J., Feng X., 2017. *Journal of Environmental Management* 186, 233-239.
- Weidner S., 2015. *Acta Scientiarum Poloniarum, Biotechnologia* 14, 43-56.
- Woźny A., Goździcka-Józefiak A., 2010. Reakcje komórek na czynniki stresowe. Tom 2. Wydawnictwo Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, 90-151.
- Xie J., Liu Y., Zeng G., Liu H., Zheng B., Tang H., Xu W. et al., 2015. *RSC Advances* 5, 67509.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych (artystycznych).

Prowadzone przeze mnie prace badawcze mieszczą się w następujących obszarach tematycznych:

1. Efektywność fitoekstrakcji wspomaganiej
2. Stabilizacja odpadów niebezpiecznych przy zastosowaniu plazmy wysokotemperaturowej
3. Monitoring zanieczyszczeń gleb metalami
4. Wpływ zanieczyszczeń gleby metalami na zawartość związków biologicznie czynnych i alergenów w roślinach konsumpcyjnych
5. Nanocząstki w środowisku i ich wpływ na organizmy żywe

5.1. Efektywność fitoekstrakcji wspomaganiej

Moje zainteresowania biologicznymi metodami oczyszczania gleb zanieczyszczonych Hg sięgają pracy doktorskiej, którą realizowałam w Instytucie Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej, pod kierunkiem ś.p. prof. Krystyny Cedzyńskiej. W pracy zatytułowanej „Fitoremediacja gleb zanieczyszczonych związkami rtęci” dowiodłam, że *Lepidium sativum* L. akumuluje Hg w swoich komórkach, przy czym akumulacja zależy od formy rtęci wprowadzonej do gleby. Ponadto w pracy doktorskiej wykazałam, że dodatek do gleby kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA) lub/i syntetycznych enzymów (ureazy, amylazy, dehydrogenazy i fosfatazy kwaśnej) sprzyja niewielkiemu wzrostowi akumulacji rtęci przez roślinę, ale znacząco poprawia translokację zanieczyszczeń do pędów *L. sativum* L. (Smolińska i Cedzyńska, 2006; Smolińska i Cedzyńska, 2007; Smolińska i Cedzyńska, 2009).

Rezultaty analiz prowadzonych w ramach pracy doktorskiej zostały opublikowane w postaci artykułów oraz zaprezentowane na konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym:

Publikacje:

Smolińska B., Cedzyńska K., (2009), The influence of chosen enzymes on mercury phytoextraction from soil. *Fresenius Environmental Bulletin* 18: 1154-1160; **IF₂₀₀₉=0,531**; **MNiSW=13**.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2009), Amylazy jako związki wspomagające fitoekstrakcję rtęci z gleby; *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 41: 417-426; **MNiSW=6**.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2007), EDTA and urease effects on Hg accumulation by *Lepidium sativum*. *Chemosphere* 69: 1388-1395; **IF₂₀₀₇=2,739**; **MNiSW=24**.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2006), Phytoextraction of soil polluted by inorganic compounds enhanced by addition of EDTA. *Fresenius Environmental Bulletin* (2006), 15: 583-587; **IF₂₀₀₆=0,531**; **MNiSW=10**.

Smolińska B., Cedzyńska K., Terkiewicz P. (2005), Wpływ dodatku kompostu do gleby na proces akumulacji rtęci przez rzeżuchę (*Lepidium sativum*). VIII Ogólnopolskie Sympozjum Naukowo-Techniczne Biotechnologia Środowiskowa, Wisła-Jarzębata (materiały konferencyjne strony 35-40).

Konferencje:

Smolińska B., Cedzyńska K., (2009), Amylazy jako związki wspomagające fitoekstrakcję rtęci z gleby; VIII Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna. Obieg Pierwiastków w Przyrodzie: Bioakumulacja-Toksyczność-Przeciwdziałanie 24-25.09.2009 Warszawa.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2008), Wpływ wybranych enzymów glebowych na proces fitoekstrakcji rtęci z gleby; Pierwiastki śladowe w środowisku – Problemy ekologiczne i metodyczne. Pierwiastki śladowe w łańcuchu żywieniowym. Koszalin.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2007), EDTA and urease effects on Hg uptake by *Lepidium sativum*. Journal of Biotechnology 131 (2S): 29; Abstracts of the 13th European Congress on Biotechnology, Barcelona, Spain.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2007), Wpływ fosfatazy kwaśnej na proces fitoekstrakcji rtęci z gleby; III Krajowy Kongres Biotechnologii, Poznań.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2006), The influence of acid phosphatase addition to the soil on mercury accumulation by garden cress (*Lepidium sativum*). The First International Environmental Best Practices Conference, Olsztyn.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2006), The influence of simultaneous addition of urease and edta into the soil on mercury accumulation by garden cress (*Lepidium sativum*). XVth Winter School of Coordination Chemistry, Karpacz.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2005), Wpływ metali ciężkich na aktywność enzymatyczną gleby. Obieg Pierwiastków w Przyrodzie: Bioakumulacja-Toksyczność-Przeciwdziałanie. Integracja Europejska. VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna, Warszawa.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2005), Fitoekstrakcja rtęci z gleby wspomagana dodatkiem EDTA; XLVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego, Poznań.

Bień (Smolińska) B., Cedzyńska K., Izydorczyk M., (2004), Phytoremediation of soil polluted by inorganic compounds of Merkury; CHISA, 16th International Congress of Chemical and Process Engineering, Prague, Czech Republic.

Bień (Smolińska) B., Cedzyńska K., (2004), The influence of EDTA on phytoremediation of soil polluted by mercury; XIVth Winter School on Coordination Chemistry, Wrocław.

Bień (Smolińska) B., Cedzyńska K., (2004), Fitoekstrakcja związków rtęci z gleby *Lepidium sativum*. XLVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego, Wrocław.

Interesujące wyniki, otrzymane w ramach pracy doktorskiej, skłoniły mnie do kontynuacji badań nad tematyką związaną z efektywnością procesu fitoekstrakcji wspomaganiej. W ramach dalszych prac, wykonałam analizy wymywalności rtęci z gleby po zastosowaniu substancji wspomagających fitoremediację. Badania nad procesem fitoekstrakcji wspomaganiej obejmowały również możliwość wykorzystania *L. sativum* L. do oczyszczania wód z metali ciężkich. Analizy zostały przeprowadzone w uprawach hydroponicznych, w wodach zanieczyszczonych ołowiem lub/i kadmem lub/i niklem.

Wyniki badań wskazały na akumulację metali w roślinie, która zależała zarówno od rodzaju metalu, jak i od jego stężenia. Efektywność procesu oczyszczania wód z metali ciężkich nie była jednak wysoka.

W ramach prac nad fitoremediacją byłam współautorem prac przeglądowych, dotyczących procesów fitoekstrakcji gleb zanieczyszczonych ołowiem, kadmem i cynkiem, a także możliwości zastosowania węgla brunatnego w oczyszczaniu zdegradowanego środowiska glebowego.

Rezultaty powyższych badań i prac zostały opublikowane oraz zaprezentowane podczas konferencji o zasięgu międzynarodowym:

Publikacje:

Smolińska B., Król K., (2012), Leaching of mercury during phytoextraction assisted by EDTA, KI and citric acid; *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 87: 1360-1365; **IF₂₀₁₂=2,504; MNiSW=30.**

Król-Domańska K., **Smolińska B.**, (2012), Advantages of lignite addition in purification process of soil polluted by heavy metals; *Biotechnology and Food Sciences* 76: 51-56; **MNiSW=2.**

Smolińska B., Cedzyńska K., (2010), Iodide for the phytoextraction of mercury contaminated soil; *Fresenius Environmental Bulletin* 19: 3049-3054; **IF₂₀₁₀=0,716; MNiSW=13.**

Smolińska B., Król K., (2010), Phytoextraction of heavy metal contaminated soils; *Scientific Bulletin of the Technical University of Lodz, Food Chemistry and Biotechnology* 1081/74: 89-98; **MNiSW=2.**

Konferencje:

Smolińska B., Sobiecka E. (2013), Fitoekstrakcja metali ciężkich z wody przy udziale *Lepidium sativum*; X Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna. Obieg Pierwiastków w Przyrodzie: Bioakumulacja - Toksyczność – Przeciwdziałanie; Warszawa.

Smolińska B., Król K., (2011), Leaching of mercury during assisted phytoextraction; 5th European Bioremediation Conference Chania, Greece.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2009), Effect of citric acid on mercury phytoextraction by *Lepidium sativum*; CEST 2009 11th International Conference on Environmental Science and Technology 3-5.09.2009. Crete, Greece.

Smolińska B., Cedzyńska K., (2009), Iodide for phytoextraction of mercury contaminated soil; 14th European Congress on Biotechnology Barcelona, Spain.

5.2. Stabilizacja odpadów niebezpiecznych przy zastosowaniu plazmy wysokotemperaturowej

W latach 2002-2006 uczestniczyłam w badaniach Zespołu Projektowego pod kierownictwem ś.p. prof. dr hab. Krystyny Cedzyńskiej, realizowanych w ramach międzynarodowych projektów dotyczących stabilizacji odpadów niebezpiecznych przy zastosowaniu plazmy wysokotemperaturowej: Grantu Unii Europejskiej GRD1-2000-25038 WASTILE „A generic – plasma – arc process for toxic waste destruction with co – generation of high value construction materials” oraz Projektu NAS – WASTILE GRD3 –

2001- 60008 "A generic – plasma – arc process for toxic waste destruction with co – generation of high value construction materiale".

Badania obejmowały m.in. procesy unieszkodliwiania odpadów niebezpiecznych, m.in. popiołów lotnych, pyłów powstałych po procesie spalania, odpadów powstałych po procesie pirolizy, popiołów lotnych pochodzące z elektrociepłowni oraz osadów ściekowych.

W ramach badań określony został skład chemiczny popiołów i osadu ściekowego, a także wykonano analizy wymywalności metali z ww. odpadów niebezpiecznych. Ponadto prace nad stabilizacją odpadów niebezpiecznych obejmowały zastosowanie metody termicznej utylizacji w reaktorze plazmy łuku elektrycznego, zbudowanym w Instytucie Aparatów Elektrycznych Politechniki Łódzkiej, pod kierunkiem prof. Z. Kołacińskiego. Proces destrukcji odpadów niebezpiecznych prowadził do otrzymania szklopodobnych produktów określanymi wityrykatami. Realizowane badania obejmowały również oznaczenie wymywalności metali z wityrykatów i ocenę skuteczności procesu wityryfikacji dla tej grupy odpadów.

Przeprowadzone badania wykazały, że proces wityryfikacji odpadów niebezpiecznych w plazmie wysokotemperaturowej stanowił efektywną technologię unieszkodliwiania tej grupy odpadów, prowadzącą do powstania produktów o stabilnej i stałej strukturze. Skutkiem tego procesu była immobilizacja metali, występujących w odpadach niebezpiecznych i stanowiących zagrożenie dla środowiska. Gotowy produkt, otrzymany w wyniku procesu wityryfikacji wysokotemperaturowej, charakteryzował się stabilnością pod względem chemicznym, co umożliwiło jego składowanie w wyznaczonych miejscach i znacząco obniżyło ryzyko negatywnego oddziaływania na środowisko.

Wyniki powyższych badań zostały przedstawione w publikacji oraz w postaci doniesień konferencyjnych:

Publikacja:

Sobiecka E., Cedzyńska K., **Smolińska B.**, (2010), Vittrification of medical waste as an alternative method of waste stabilization; Fresenius Environmental Bulletin 19: 3046-3048. IF₂₀₁₀=0,716; MNiSW=13.

Konferencje:

Cedzyńska K., Sroczyński W., **Smolińska B.**, (2005), Jednoczesna utylizacja popiołów lotnych z elektrociepłowni oraz DDT w procesie wityryfikacji plazmowej; XLVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego, Poznań.

Cedzyńska K., **Bień (Smolińska) B.**, Winsche M., (2004), Wityryfikacja plazmowa osadów ściekowych; XLVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego, Wrocław.

5.3. Monitoring zanieczyszczeń gleb metalami

W latach 2008-2012 moja aktywność naukowa była związana z badaniami, dotyczącymi monitoringu stężeń metali ciężkich w glebach. W ramach prac nad tym tematem byłam współautorem analiz dotyczących zmian stężeń metali, m.in. Pb, Co, Zn, Cr, Ni, Cd, As, i Fe w glebach miejskich aglomeracji łódzkiej. Powyższe badania były prowadzone w latach 2008-2010, na glebach ubrano- i industroziemnych, pobranych do analiz z powierzchniowych warstw, na czterech różnych obszarach miasta Łodzi. Wyniki wykazały, że bez względu na miejsce poboru, próby glebowe charakteryzowały się niższym niż dopuszczalne stężeniem oznaczonych metali. Obserwacje terenu i analizy laboratoryjne umożliwiły stwierdzenie, że stężenia Pb, Co, Zn, Cr, Ni, Cd, As, i Fe utrzymywały się na niskim poziomie, zatem gleby zaliczono do niezanieczyszczonych.

Wyniki powyższych badań zostały przedstawione w publikacjach:

Publikacje:

Smolińska B., Król K., (2011), Wymywalność niklu z prób glebowych aglomeracji łódzkiej; Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych 49: 228-239; **MNiSW=5.**

Król K., **Smolińska B.**, (2011), Występowanie żelaza w glebach miasta Łodzi; Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych 49: 240-246; **MNiSW=5.**

Niedbała M., **Smolińska B.**, (2011), Monitoring zanieczyszczenia gleb miejskich miasta Łodzi wybranymi pierwiastkami śladowymi w latach 2008-2010; Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych 49: 247-255; **MNiSW=5.**

Niedbała M., **Smolińska B.**, Król K.,(2010): Zanieczyszczenia gleb miejskich miasta Łodzi wybranymi pierwiastkami śladowymi; Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej, Chemia Spożywcza i Biotechnologia 1081/74: 29-38; **MNiSW=2.**

5.4. Wpływ zanieczyszczeń gleby metalami na zawartość związków biologicznie czynnych i alergenów w roślinach konsumpcyjnych

W ramach powyższego tematu jestem współautorem badań obejmujących wpływ metali, m.in. Zn, Ni, Cu, Mn i Co, występujących w środowisku jako zanieczyszczenia gleby, na zawartość związków biologicznie czynnych oraz białek alergicznych w wybranych roślinach konsumpcyjnych z rodziny *Lamiaceae* (mięta, bazylia, rozmaryn), *Apiaceae* (kolendra, koper, pietruszka) i *Brassicaceae* (pieprzyca siewna, gorczyca). Badania te obejmują zarówno analizy systemów antyoksydacyjnych wybranych roślin, ze szczególnym uwzględnieniem zmian indukowanych w komórkach roślin pod wpływem metali w różnych stężeniach, jak również analizy zmian zawartości białek w roślinach oraz identyfikację białek, mogących stanowić potencjalne alergeny w analizowanych roślinach konsumpcyjnych.

Przeprowadzone dotychczas badania wykazały, że metale obecne w glebie wpływały na zamiany stężeń i aktywności związków biologicznie czynnych w roślinach konsumpcyjnych ze wszystkich rodzin poddanych analizom. Zamiany te były zależne od rodzaju metalu stanowiącego zanieczyszczenie gleby oraz jego stężenia. Ponadto, pomimo zmian w profilach białkowych roślin, tylko w nielicznych przypadkach zaobserwowano zwiększone stężenie białek alergennych z grupy profilin (bazylia).

Badania nad wybranymi gatunkami roślin są kontynuowane w ramach współpracy Zespołu pod kierunkiem dr hab. Joanny Leszczyńskiej (Instytut Podstaw Chemii Żywności) z prof. Vassilisem Fotopoulos z Politechniki Cypryjskiej w Limassol.

Część powyższych badań została opracowana i umieszczona w pracy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Szczodrowskiej pt. „Pieprzycza ogrodowa *Lepidium sativum* L. jako konsumpcyjna roślina modelowa w badaniach stresu abiotycznego”, której byłam promotorem pomocniczym (promotor główny dr hab. inż. Joanna Leszczyńska), obronionej w kwietniu 2017 r.

Wyniki powyższych badań zostały częściowo przedstawione w publikacji oraz na konferencjach o zasięgu międzynarodowym i krajowym:

Publikacja:

Szczodrowska A., Kulbat K., **Smolińska B.**, Leszczyńska J., (2016), Accumulation of metal ions in selected plants from *Brassicaceae* and *Lamiaceae* families. *Biotechnology and Food Sciences* 80: 29-42; **MNiSW=8**.

Konferencje:

Szczodrowska A., Kulbat K., **Smolińska B.**, Leszczyńska J., (2015), The accumulation of some metal ions in selected plants from *Brassicaceae* and *Lamiaceae* family; 6th European Bioremediation Conference Chania, Crete, Greece.

Georgiadou E., Kowalska E., Patla K., Kulbat K., **Smolińska B.**, Leszczyńska J., Fotopoulos V., (2015), Effect of three heavy metals (Cu, Zn, Ni) on the aromatic plant *Ocimum basilicum*; 27th Panhellenic Conference of the Greek Society for Horticultural Science, Volos, Greece.

Szczodrowska A., Kulbat K., **Smolińska B.**, Leszczyńska J., (2015), The contamination of soil with metal ions and a content of biologically active compounds in the selected consumer plants; *Biologically Active Compounds In Food*, Łódź.

5.5. Nanocząstki w środowisku i ich wpływ na organizmy żywe

Moje zainteresowania naukowe dotyczą również zastosowania nanocząstek w remediacji środowiska glebowego oraz ich potencjalnego wpływu na rośliny wyższe. W ramach tej tematyki prowadzone są badania nad wpływem nanocząstek cynku i niklu na *L. sativum* L. Podjęte analizy dotyczą również możliwości zastosowania nanocząstek żelaza (nZVI) w procesie fitostabilizacji wybranych metali ciężkich, zachodzącej przy udziale *Lolium westwoldicum* L. Podjęte badania mają na celu opracowanie skutecznej technologii immobilizacji zanieczyszczeń w glebie. Prace badawcze z powyżej tematyki są

realizowane pod moją opieką, jako opiekuna naukowego, przez słuchaczkę Studium Doktoranckiego Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ, mgr inż. Lidę Mielcarz-Skalską.

Moja aktywność naukowa w tym temacie obejmuje współautorstwo następujących publikacji przeglądowych i doniesienia konferencyjnego:

Publikacje:

Mielcarz-Skalska L., Smolińska B., (2017), Zinc and nano-ZnO – influence on living organisms. *Biotechnology and Food Sciences* 81: 93-102; MNiSW =8.

Mielcarz L., Smolińska B., (2016), Nickel – the use and influence on living organisms. *Biotechnology and Food Sciences* 80: 43-52; MNiSW=8.

Konferencja:

Mielcarz-Skalska L., Smolińska B., (2017), Analysis of non-enzymatic *L. sativum* L. antioxidant system during exposure to zinc in nanoparticle form. *Biologically Active Compounds in Food*; 2nd International Conference, Łódź.

6. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego

Osiągnięcie będące podstawą ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych zostało przedstawione w publikacjach o łącznej wartości współczynnika *impact factor*:

IF=18,180*; IF_{5-letni}=20,521*; MNiSW=235**.

Pozostałe osiągnięcia naukowe zostały opisane w publikacjach o łącznej wartości współczynnika *impact factor*:

IF=8,217; IF_{5-letni}=9,316; oraz punkty MNiSW=103**.

Sumaryczny IF=26,397*; IF_{5-letni}=29,837*, łączna liczba punktów MNiSW=383**.

Index Hirsha według *Web of Knowledge All Databases* wynosi 6, suma cytowań to 78 (60 bez autocytowań).

*IF *impact factor* zgodny z rokiem opublikowania lub w przypadku publikacji z 2017 i 2018 roku IF 5-letni, wyliczony przez Thompson Reuters dla roku 2016, dostępny na Web of Science.

**pkt MNiSW – punkty zgodne z rokiem opublikowania lub wykazem z dnia 26 stycznia 2017 (publikacja MNiSW).



Łódź, dn. 27.04.2018