



AUTOREFERAT

prezentujący dorobek i osiągnięcia naukowe

dr inż. Kinga Drzewiecka

**Katedra Chemii
Wydział Technologii Drewna
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu**

Poznań 2017

1. DANE PERSONALNE

Imię i nazwisko

Kinga Drzewiecka

Miejsce zatrudnienia

Katedra Chemii

Wydział Technologii Drewna

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

ul. Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań

tel. 61 8487853, fax. 61 8487824

2. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE

– **dypłom magistra inż. towaroznawstwa - 2001 r.**

Wydział Towaroznawstwa, Akademia Ekonomiczna w Poznaniu

(obecnie: Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu)

Tytuł pracy magisterskiej:

„Akumulacja wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w jabłkach”

realizowana w Katedrze Analizy Instrumentalnej

Promotor: prof. dr hab. Jacek Koziół

Recenzent: prof. dr hab. Alicja Maleszka

– **stopień doktora nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa - 2007 r.**

Wydział Ogrodniczy, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu

(obecnie: Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu)

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„Kwas salicylowy w reakcjach roślin na wybrane stresy środowiskowe”

realizowana w Katedrze Chemii

Promotor: prof. dr hab. Piotr Goliński

Recenzenci:

prof. dr hab. Monika Kozłowska

(Katedra Fizjologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu)

prof. dr hab. Barbara Tomaszewska

(Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu)

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

- II-VI.2001 – **asystent-stażysta** (zatrudnienie na czas zastępstwa), Katedra Analizy Instrumentalnej, Akademia Ekonomiczna w Poznaniu (obecnie: Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu),
- 2001-2005 – **uczestnik Studium Doktoranckiego** przy Wydziale Ogrodniczym, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu (obecnie: Wydział Ogrodniczy i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu),
- 2002-2007 – **asystent (½ etatu)**, Katedra Chemii, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu (obecnie: Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu),
- 2007-2008 – **asystent**, Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,
- 2008-obecnie – **adiunkt**, Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu.

4. OPIS OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO BĘDĄCEGO PODSTAWĄ DO ZŁOŻENIA WNIOSKU O WSZCZĘCIE POSTĘPOWANIA HABILITACYJNEGO

- a) Zgodnie z art. 16 ust. 2 ustawy z dn. 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) przedkładam osiągnięcie naukowe pt.:

Interakcje metali ciężkich, metaloidów i ich form – wpływ na wybrane parametry fizjologiczne w fito- i mykoremediacji

- b) Przedłożone osiągnięcie naukowe udokumentowane jest cyklem **6** publikacji naukowych (w tym 5 prac, których jestem pierwszym autorem) o łącznej sumie punktów MNiSW **175** oraz sumarycznym IF wg bazy Journal Citation Reports (JCR) **13,424** (zgodnie z rokiem opublikowania):

- I. **Drzewiecka K.**, M. Mleczek, M. Gąsecka, Z. Magdziak, P. Goliński (2012) Changes in *Salix viminalis* L. cv. 'Cannabina' morphology and physiology in response to nickel ions - hydroponic investigations. Journal of Hazardous Materials, 217-218: 429-438.

IF₂₀₁₂=3,925; 45 pkt. MNiSW

- II. Gąsecka M., M. Mleczek, **K. Drzewiecka**, Z. Magdziak, T. Chadzinikolau, I. Rissmann, P. Goliński (2012) Physiological and morphological changes in *Salix viminalis* as a result of plant exposure to copper. Journal of Environmental Science and Health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 47: 48-557.

IF₂₀₁₂=1,252; 20 pkt. MNiSW

- III. **Drzewiecka K.**, M. Mleczek, M. Gąsecka, Z. Magdziak, A. Budka, T. Chadzinikolau, Z. Kaczmarek, P. Goliński (2017) Copper and nickel co-treatment alters metal uptake and stress parameters of *Salix purpurea* × *viminalis*. *Journal of Plant Physiology*, 216:125-134.

IF₂₀₁₆=3,121; 35 pkt. MNiSW

- IV. **Drzewiecka K.**, M. Gąsecka, P. Rutkowski, Z. Magdziak, P. Goliński, M. Mleczek (2017) Arsenic forms and their combinations induce differences in phenolic accumulation in *Ulmus laevis* Pall. *Journal of Plant Physiology*, 220: 34–42.

IF₂₀₁₆=3,121; 35 pkt. MNiSW

- V. **Drzewiecka K.**, M. Mleczek (2017) Salicylic acid accumulation as a result of Cu, Zn, Cd and Pb interactions in common reed (*Phragmites australis*) growing in natural ecosystems. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39:182.

IF₂₀₁₆=1,364; 25 pkt. MNiSW

- VI. **Drzewiecka K.**, M. Siwulski, M. Mleczek., P. Goliński, K. Sobieralski (2012) Bioaccumulation of heavy metals from artificially enriched substrates and their impact on physiology of King Oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). *Fresenius Environmental Bulletin*, 21: 1666-1674.

IF₂₀₁₂=0,641; 15 pkt. MNiSW

Indywidualny wkład habilitanta w powstanie przedstawionych powyżej prac naukowych jest znaczący, co wykazano w załączniku nr 4. Oświadczenia współautorów tych prac wraz z określeniem ich indywidualnego udziału wykazano w załączniku nr 6. Żadna z ww. prac nie była częścią monotematycznego cyklu prac w innym postępowaniu habilitacyjnym.

c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników

Wprowadzenie:

W warunkach naturalnych, jednoczesne występowanie metali jest zjawiskiem powszechnym, prowadzącym do synergistycznych i antagonistycznych interakcji, zarówno między pierwiastkami toksycznymi, jak i metalami niezbędnymi dla wzrostu i rozwoju roślin. Powyższe interakcje wpływają na pobieranie składników mineralnych z podłoża, jak również na stopień akumulacji i translokacji metali ciężkich do organów nadziemnych oraz znacząco modyfikują ich toksyczność (KOVÁČIK I IN. 2012, GUALA I IN. 2010, LI I IN. 2009). Uwzględnienie zjawiska interakcji między metalami, metaloidami oraz ich formami o zróżnicowanej toksyczności jest niezwykle

ważne w aspekcie zastosowania metod biologicznych z użyciem roślin w celu bioindykacji, jak również fitoremediacji zanieczyszczeń metalicznych i metaloidowych (KOMANICKA I IN. 2013, FRIESL I IN. 2006, PULFORD & WATSON 2003). W chwili obecnej, złożone zanieczyszczenie środowiska glebowego oraz wodnego stanowi poważny problem ekologiczny, głównie na silnie zdegradowanych terenach przemysłowych i poprzemysłowych. Sytuacja ta wymaga użycia metod oczyszczania przyjaznych środowisku, które pozwalają na stopniową regenerację gleby i odbudowę bioróżnorodności gatunkowej. Jednakże zastosowanie metod biologicznych, w tym fito- i mykoremediacji, wymaga wytypowania gatunków/taksonów o wysokiej tolerancji oraz znajomości mechanizmów ich reakcji na zanieczyszczenia w warunkach ich współwystępowania w środowisku.

Dotychczasowy stan wiedzy nie dostarcza wyczerpującej informacji o łącznym wpływie różnych metali na metabolizm roślin w warunkach stresowych, co wynikać może ze złożoności analizy i trudności interpretacyjnych zależności istniejących między metalami, a prowadzących do zmniejszenia lub zwiększenia ich toksyczności. Prace wchodzące w skład przedstawionego osiągnięcia stanowią znaczący wkład w rozwój dyscypliny ochrona i kształtowanie środowiska, a ich celem ogólnym było poznanie odpowiedzi roślin na oddziaływanie metali łącznie i porównanie/weryfikacja tych odpowiedzi względem oddziaływania pojedynczego czynnika stresowego (metal) w warunkach kontrolowanych oraz w naturalnych warunkach środowiskowych. Wymienione prace mają charakter pionierski i dostarczają nowych informacji dotyczących wpływu interakcji metali/form metaloidów na poziom wybranych metabolitów o właściwościach obronnych - w tym biochemicznych wskaźników stresu - u roślin stosowanych lub cechujących się znacznym potencjałem do zastosowania w fitoremediacji (wierzba energetyczna, wiąz szypułkowy i trzcina pospolita).

Podwyższone zawartości metali ciężkich i metaloidów w glebie, w tym również mikroelementów (np. Cu, Zn, Ni), wywołują u roślin objawy fitotoksyczności i negatywie wpływają na kondycję całych ekosystemów. Toksyczne działanie tych pierwiastków powoduje zaburzenia gospodarki wodnej i odżywiania mineralnego roślin, obniżenie aktywności fotosyntetycznej oraz utlenianie składników komórkowych, a wynika z reakcji jonów metali/metaloidów z grupami tiolowymi białek prowadzących do zmian konformacyjnych, konkurencyjnego zahamowania pobierania innych jonów (makro- i mikroelementów) oraz substytucji metali z grup prostetycznych metaloenzymów (w szczególności antyoksydacyjnych) (CHEN I IN. 2009, ERNST 2006). Zależnie od aktywności/potencjału oksydoredukcyjnego, jony metali/metaloidów mogą bezpośrednio – w reakcjach Habera-Weissa i Fentona (np. Cu^{2+}) oraz pośrednio – poprzez indukcję oksydazy NADPH błon komórkowych (np. Ni^{2+} , Cd^{2+}), generować reaktywne formy tlenu (RFT; *ang.* reactive oxygen species – ROS) prowadząc do stresu

oksydacyjnego (SHAHID I IN. 2014, GAJEWSKA & SKŁODOWSKA 2007, VAN ASSCHE & CLIJSTERS 1990). Odporność roślin na działanie metali ciężkich jest zjawiskiem złożonym i opartym na mechanizmach unikania (symbioza z mikroorganizmami glebowymi, ekskrecja protonów i kwasów organicznych do podłoża z następującym wiązaniem w ryzosferze oraz ograniczeniem biodostępności/mobilności metali), tolerancji (wiązanie metalu przez grupy funkcyjne obecne w ścianie komórkowej, ograniczenie transportu przez błonę komórkową, sprawne chelatowanie przez kwasy organiczne i tworzenie kompleksów z peptydami – metalotioneidami i fitochelatynami i dalsze magazynowanie w wakuoli) oraz na niespecyficznym odpowiedzi obronnej roślin (stres oksydacyjny, biosynteza szeregu metabolitów wtórnych) (HALL 2002).

Metabolomika stresu jest zagadnieniem niezwykle złożonym i skupiającym zainteresowanie specjalistów wielu dziedzin nauki, tj. biologów, fizjologów, jak i genetyków. Jak wykazano w przypadku roślin hiperakumulatorowych (ASSUN I IN. 2003), wzmożona akumulacja metali jest genetycznie niezależna od mechanizmów tolerancji, jednakże oba zjawiska wymagają dalszych badań w celu wskazania metabolitów pełniących funkcję zarówno w niespecyficznym reakcji roślin na stres oksydacyjny, jak i w mechanizmach detoksykacji metali ciężkich. Tak złożoną funkcję przypisuje się związkom fenolowym, których wzmożona biosynteza towarzyszy różnorodnym warunkom stresowym (GAŚECKA I IN. 2017, KOVÁČIK I IN. 2008, BIAŁOŃSKA I IN. 2007, MICHALAK 2006). Związki fenolowe to szerokie spektrum metabolitów obejmujące flawonoidy, kwasy fenolowe, stilbeny, taniny itd., które (wraz z formą polimeryczną - ligniną) pełnią funkcje przeciwutleniaczy, chelatorów i składników strukturalnych. Zmiany w składzie frakcji fenolowej oraz intensyfikacja biosyntezy tych metabolitów są obserwowane u roślin wzrastających naturalnie na terenach zdegradowanych i służą jako biochemiczny wskaźnik stopnia zanieczyszczenia środowiska.

Wśród związków fenolowych, szczególną uwagę zwraca kwas salicylowy (SA) pełniący funkcję regulatora wzrostu i rozwoju roślin, jak również substancji regulatorowej i sygnałowej w mechanizmach reakcji obronnej roślin na szereg czynników stresowych (POPOVA I IN. 1997, RASKIN 1992). Udział SA w reakcji nadwrażliwości (*ang.* hypersensitive response - HR) i odporności nabytej systemowo (*ang.* systemic acquired resistance - SAR) u roślin porażonych przez patogeny jest dobrze rozpoznany, jednakże rola tego metabolitu w strategii obronnej roślin na czynniki abiotyczne, w szczególności pochodzenia antropogenicznego, pozostaje nadal niewyjaśniona i wymaga dalszych badań. Prace wchodzące w skład prezentowanego osiągnięcia istotnie poszerzają stan wiedzy o roli kwasu salicylowego w reakcji roślin na toksyczne działanie jonów metali i metaloidów dowodząc jej złożonego charakteru. Funkcja transduktora sygnału indukowanego przez stres – pełniona także przez jego lotny ester metylowy – dotyczy zarówno komunikacji między podziemnymi a nadziemnymi organami danej rośliny, jak również między

roślinami znajdującymi się w bliskim sąsiedztwie. Podczas stresu oksydacyjnego, związek ten oddziałuje z reaktywnymi formami tlenu (RFT) wpływając na ekspresję genu NPR1 – kluczowego regulatora SAR, oraz indukując kaskady kinaz białkowych (MAPK). Wykazano, że reguluje aktywność enzymów antyoksydacyjnych, poziom glutationu i ekspresję genów mitochondrialnych i w konsekwencji moduluje status redoks komórek (BERKOWITZ I IN. 2016, SINGH I IN. 2016, SAMUEL I IN. 2005). Jako związek z grupy kwasów fenolowych, wykazuje również właściwości chelatujące i antyoksydacyjne o dużym znaczeniu w detoksykacji jonów metali i metaloidów. Pierwsze doniesienie o indukcji biosyntezy SA pod wpływem metali ciężkich pochodzi z 2002 roku, w którym PÁL I IN. (2002) udokumentowali wzrost zawartości tego metabolitu w liściach siewek kukurydzy traktowanych kadmem. Następnie, FREEMAN I IN. (2004, 2005) wykazali jego wzmożoną akumulację wśród gatunków tobołków o właściwościach hiperakumulatorowych względem niklu i cynku. Udokumentowano, że metabolit ten blokuje aktywność syntazy fitochelatynowej utrzymując tym samym wysoki poziom glutationu o działaniu antyoksydacyjnym ograniczając nagromadzenie RFT i poziom stresu oksydacyjnego. Dodatkowo, egzogenne SA znacząco obniża akumulację kadmu w liściach i tym samym toksyczność metalu, co udowodniono dla siewek lnu i ryżu wyprowadzonych z nasion traktowanych tym metabolitem. Jednakże w przypadku niklu, obserwowano wzrost translokacji metalu do aparatu fotosyntetycznego i spadek parametrów biomasy, co wskazuje na istotny wpływ charakterystyki metalu na jego interakcję z metabolitem (BELKADHI I IN. 2012, KOVÁČIK I IN. 2009, POPOVA I IN. 2008, CHOUDHURY & PANDA 2004).

Z uwagi na złożoną funkcję SA w odpowiedzi roślin na czynniki stresowe, jego biosynteza i działanie mogą mieć kluczowe znaczenie w odpowiedzi obronnej roślin na toksyczne działanie metali ciężkich i metaloidów, w szczególności w warunkach ich współistnienia i interakcji w środowisku i wpływać na skuteczność fitoremediacji. Analiza zawartości kwasu salicylowego w formie wolnej - aktywnej biologicznie (SA) oraz jego glukozydu będącego formą magazynową metabolitu (SAG) prowadzona metodą chromatografii cieczowej w sprzężeniu z wysoce selektywną i czułą detekcją fluorymetryczną, stanowi mój indywidualny wkład jako Habilitanta w przedstawionym cyklu publikacji. Ponadto, odpowiedni wybór metod statystycznych analizy uzyskanych wyników pozwolił mi na zdywersyfikowanie wpływu metali ciężkich na indukcję biosyntezy SA w warunkach ich interakcji oraz na określenie różnic w poziomie stężeń innych metabolitów – zarówno pierwotnych, jak i wtórnych – związanych z metabolizmem fenolowym i reakcją obronną roślin (cukry proste, ogólna zawartość i profil związków fenolowych, glutation). Przedstawione prace mają charakter nowości i stanowią znaczące uzupełnienie dotychczasowej wiedzy o reakcji roślin na działanie toksycznych pierwiastków.

Obok fitoremediacji, skuteczną metodą biologicznego oczyszczania gleb z ksenobiotyków oraz zanieczyszczeń metalicznych jest mykoremediacja, wykorzystująca właściwości grzybów białej zgnilizny drewna (*ang.* white-rot fungi – WRF), w tym wielkoowocnikowych grzybów jadalnych z rodzaju *Pleurotus*, *Lentinula*, *Pholiota* itd. (POINTING 2001). Grzyby te charakteryzuje zdolność do całkowitego rozkładu ligniny umożliwiającą im przerastanie drewna i zasiedlanie pni drzew. Cecha ta uwarunkowana jest zdolnością grzybni do wytwarzania i pozakomórkowego wydzielania do podłoża kompleksu enzymów ligninolitycznych, tzw. ligninazy (*ang.* lignin-modifying enzymes – LME), w skład którego wchodzi peroksydaza ligninowa, peroksydaza zależna od manganu oraz lakaza. Enzymy te, dzięki niskiej specyficzności względem utlenianego substratu, rozkładają również związki podobne pod względem struktury do ligniny, w tym wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), polichlorowane bifenylole (PCB), dioksyny, pestycydy (np. DDT, lindan, pentachlorofenol), materiały wybuchowe (np. TNT) oraz niektóre rozpuszczalniki organiczne (np. czterochlorek węgla). Degradacja enzymatyczna zanieczyszczeń organicznych przez ligninazę oparta jest na niespecyficznym mechanizmie wolnorodnikowym inicjowanym przez peroksydazy z udziałem związków pomocniczych wydzielanych przez grzybnię do podłoża, tj. kwasu szczawowego – donora elektronów oraz alkoholu 3,4-dimetoksybenzylowego (in. weratrylowego) i nadtlenku wodoru - mediatorów zwiększających potencjał oksydacyjny układu enzymów ligninolitycznych (MESTER & TIEN 2000). Grzyby białej zgnilizny drewna wykazują również unikalną zdolność do pobierania i akumulacji metali ciężkich (KALAC & SVOBODA 2000). Wcześniejsze badania przeprowadzone na kulturach grzybowych popularnego bocznika ostrygowatego (*Pleurotes ostreus*) wykazały akumulację miedzi wynoszącą 10 $\mu\text{g g}^{-1}$ s.m. i cynku 5 $\mu\text{g g}^{-1}$ s.m. przy dodatku metalu do podłoża na poziomie 5 mM, natomiast dodatek 3 mM ołowiu wywołał akumulację rzędu 20 $\mu\text{g g}^{-1}$ s.m. (SANGLIMSUWAN I IN. 1993). Na przestrzeni lat, w wielu pracach udokumentowano akumulację toksycznych pierwiastków w grzybni i owocnikach grzybów jadalnych, podczas gdy jedynie nieliczne dotyczą mechanizmów niezwyklej tolerancji i sprawnej detoksykacji metali ciężkich przez te organizmy. Przypuszczalnie, oprócz wydajnej biosorpcji metali przez polisacharydy ścian komórkowych, grzyby dysponują wewnątrzkomórkowym mechanizmem polegającym na tworzeniu stabilnych połączeń jonów metali z białkami i aminokwasami ograniczającym ich toksyczność (COLLIN-HANSEN I IN. 2007). Podobnie jak w przypadku fitoremediacji, problem wpływu interakcji metali w podłożu na efektywność procesu oczyszczania dotyczy również tej metody, a zróżnicowany wpływ jonów na aktywność enzymatyczną ligninazy odgrywać może kluczową rolę w ograniczaniu wzrostu grzybni i stopnia przerastania zanieczyszczonego podłoża, a co za tym idzie ograniczać dostępność metali. Zagadnienie to stanowiło jedno z zadań badawczych w kierowanym przeze mnie projekcie w latach 2009-2011 a poświęconym możliwościom zastosowania grzybów białej zgnilizny drewna w mykoremediacji gleb

zanieczyszczonych związkami z grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) oraz biosorpcji metali ciężkich jako metody o charakterze pionierskim w skali kraju.

OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO I WYNIKÓW WW. PRAC:

SYNERGISTYCZNE I ANTAGONISTYCZNE INTERAKCJE MIĘDZY METALAMI I ICH WPŁYW NA METABOLOMIKĘ WIERZBY ENERGETYCZNEJ W WARUNKACH ODDZIAŁYWANIA MIEDZI I NIKLU

Drzewiecka K., M. Mleczek, M. Gąsecka, Z. Magdziak, P. Goliński (2012) *Changes in Salix viminalis L. cv. 'Cannabina' morphology and physiology in response to nickel ions - hydroponic investigations. Journal of Hazardous Materials, 217-218: 429-438. (45 pkt. MNiSW; IF₂₀₁₂=3,925)(zał. 4, praca: IB1)*

Gąsecka M., M. Mleczek, K. Drzewiecka, Z. Magdziak, T. Chadzinikolau, I. Rissmann, P. Goliński (2012) *Physiological and morphological changes in Salix viminalis as a result of plant exposure to copper. Journal of Environmental Science and Health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 47: 48-557. (20 pkt. MNiSW; IF₂₀₁₂=1,252) (zał. 4, praca: IB2)*

Drzewiecka K., M. Mleczek, M. Gąsecka, Z. Magdziak, A. Budka, T. Chadzinikolau, Z. Kaczmarek, P. Goliński (2017) *Copper and nickel co-treatment alters metal uptake and stress parameters of Salix purpurea × viminalis. Journal of Plant Physiology, 216:125-134. (35 pkt. MNiSW; IF₂₀₁₆=3,121) (zał. 4, praca: IB3)*

Istotnym problemem ekologicznym występującym na terenach uprzemysłowionych, w szczególności w sąsiedztwie kopalni i hut metali nieżelaznych, jest mieszane zanieczyszczenie metaliczne. Dotyczy ono m.in. miedzi i niklu, a wynika ze współistnienia minerałów tych pierwiastków w wydobywanych i przetwarzanych rudach (najczęściej sulfidowych). Przemysł elektroniczny i galwaniczny stanowią dodatkowe źródło jednoczesnej emisji obu metali pogłębiające ten problem.

Efektywna fitoremediacja, w tym fito ekstrakcja, jest obiecującą i szybko rozwijającą się metodą oczyszczania terenów zanieczyszczonych przy stosunkowo niewielkim nakładzie finansowym. Jednakże zanieczyszczenia mieszane wymagają użycia gatunków roślin o wysokiej tolerancji i zdolnościach akumulacyjnych względem szerokiego spektrum metali. Oprócz fitoekstrakcji metali ciężkich, zastosowanie gatunków tolerancyjnych (w tym z rodzaju *Salix* i *Populus*) oraz ich mieszańców wpływa korzystnie na skład i strukturę gleby oraz ogranicza biodostępność metali umożliwiając tym samym ekspansję gatunków mniej tolerancyjnych i przywrócenie równowagi biocenotycznej w tworzącym się ekosystemie.

Obiektem badań przedstawionych w powyższych pracach była hybryda wierzby purpurowej i wiciowej - *Salix purpurea × viminalis* (wcześniej opisana jako *Salix viminalis* L. cv. „Cannabina”), wykazująca zarówno znaczne tempo wzrostu i produkcji biomasy, jak i relatywnie

wysoką tolerancję na działanie metali ciężkich w porównaniu z innymi gatunkami drzewiastymi. Ponadto istotną cechą tej hybrydy są wysokie zdolności akumulacyjne metali takich jak miedź, cynk, chrom i kadm potwierdzone zarówno w badaniach modelowych, jak i *in situ*. Z uwagi na cenne walory użytkowe, mieszańec ten wykazuje istotny potencjał do zastosowania w fitoremediacji toksycznych pierwiastków i rekultywacji terenów silnie zanieczyszczonych.

Celem ww. prac było wskazanie różnic w odpowiedzi metabolicznej sadzonek mieszańca *Salix purpurea* × *viminalis* na obecność podwyższonych stężeń miedzi i niklu w podłożu oraz określenie wpływu łącznego występowania tych metali na ich akumulację i metaboliczne wskaźniki toksyczności. Oba pierwiastki należą do grupy metali przejściowych i pełnią rolę mikroelementów niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania roślin. Mimo podobieństwa chemicznego, miedź jest pierwiastkiem o dużo większym znaczeniu fizjologicznym niż nikiel, pełniącym funkcję kofaktora dla szeregu białek enzymatycznych, w tym antyoksydacyjnych. W konsekwencji, średnia zawartość miedzi w organach roślin wyższych w zależności od gatunku i organu wynosi ~1-5 $\mu\text{g g}^{-1}$ s.m., natomiast niklu jedynie 2-4 ng g^{-1} s.m. Mimo znaczącej różnicy w zawartości podstawowej, próg toksyczności obu metali dla większości roślin kształtuje się na zbliżonym poziomie, tj. ~20-30 i 10-50 $\mu\text{g g}^{-1}$ s.m., odpowiednio dla miedzi i niklu. Choć mechanizmy toksyczności obu metali są stosunkowo dobrze rozpoznane, do tej pory nie przeprowadzono systematycznej analizy wpływu łącznego tych pierwiastków na aktywację mechanizmów obronnych i reakcję roślin stosowanych w fitoremediacji.

W przedstawionych badaniach, jednoroczne zrzezy otrzymane z trzyletniej karpki *Salix purpurea* × *viminalis* uprawiano w warunkach kontrolowanych na pożywce Knopa z dodatkiem jonów miedzi (Cu^{2+}) (zał. 4, pkt. IB1) lub niklu (Ni^{2+}) (zał. 4, pkt. IB2) oraz ich równomolowych mieszanin (zał. 4, pkt. IB3). Metale dodawano do pożywki w formie łatwo rozpuszczalnych w wodzie hydratów soli azotanowych uzyskując stężenia 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 i 3,0 mM każdego z nich. Po 14 dniach uprawy, analizowano parametry biometryczne sadzonek (całkowitą masę korzeni, ich średnią długość, długość pędów i liści oraz powierzchnię liści), akumulację miedzi lub/i niklu oraz poziom wybranych metabolitów (całkowita zawartość związków fenolowych, zawartość rozpuszczalnych węglowodanów, poziom glutationu, jak również zawartość kwasu salicylowego w formie wolnej i związanej w glukozyd). W celu określenia różnic w odpowiedzi mieszańca na obecność miedzi i niklu w pożywce, jak również wpływu ich interakcji na badane parametry stresu, uzyskane wyniki weryfikowano względem układów jednoczynnikowych wykorzystując odpowiednie metody statystyczne, w tym analizę regresji wielorakiej, analizę kontrastów i analizę głównych składowych (*ang.* Principal Component Analysis - PCA).

Po 14 dniach uprawy, obecność zarówno miedzi jak i niklu w pożywce wpływała wysoce negatywnie na wzrost i rozwój sadzonek wierzby. W przypadku zastosowania mieszaniny,

spadek wartości parametrów biometrycznych roślin był istotnie skorelowany z poziomem obu metali w pożywce, przy czym zahamowanie wzrostu dotyczyło głównie układu korzeniowego, dla którego obserwowano spadek biomasy względem kontroli o ~90% przy najwyższym zastosowanym stężeniu (3 mM). Jednocześnie, redukcja średniej długości liści wynosiła ~54%, natomiast powierzchni fotosyntetycznej jedynie ~41%. Wykazano również antagonistyczny wpływ niklu względem miedzi na średnią długość pędów wynikający z ograniczenia akumulacji miedzi w tych organach wywołanego konkurencyjnym działaniem niklu.

Poziom akumulacji miedzi i niklu w poszczególnych organach mieszańca był silnie skorelowany z rosnącym poziomem metali w pożywce ($R^2=0,9264-0,9871$), przy czym najwyższe zawartości odnotowano dla korzeni (~20 i 14 $\mu\text{g g}^{-1}$ s.m. przy 3 mM, odpowiednio dla miedzi i niklu) i zdrewniałych pędów (~14 $\mu\text{g g}^{-1}$ s.m. przy 3 mM dla obu metali). Jednocześnie translokacja metali do organów nadziemnych kształtowała się na niskim poziomie i wynosiła ~26 i 23%, odpowiednio dla niklu i miedzi względem ich zawartości w korzeniach. Przy jednoczesnym występowaniu obu metali w podłożu, obserwowano nieznaczną, choć istotną statystycznie, stymulację ich pobierania do liści.

Obecność metali w pożywce prowadziła do zaburzeń w metabolizmie węglowodanów i znacznego wzrostu zawartości cukrów rozpuszczalnych (glukozy, fruktozy i sacharozy) w liściach roślin poddanych działaniu miedzi i niklu względem osobników kontrolnych. Wzrost ten był istotnie skorelowany z poziomem metali w roztworze, przy czym najbardziej istotną zależność obserwowano dla sacharozy ($R^2=0,7439$), nieco mniej istotną natomiast w przypadku cukrów prostych ($R^2\approx 0,66$). Przy jednoczesnej obecności miedzi i niklu w pożywce, obserwowano synergistyczny wzrost akumulacji glukozy i fruktozy w liściach mieszańca, natomiast dodatek niklu działał konkurencyjnie względem miedzi i ograniczał akumulację sacharozy.

Oba metale silnie indukowały akumulację związków fenolowych w liściach hybrydy, w tym kwasu salicylowego zarówno w formie wolnej jak i związanej w glukozyd. Wskutek aktywacji reakcji obronnej, całkowita zawartość metabolitu wzrosła średnio z ~2,6 do 60 $\mu\text{g g}^{-1}$ s.m. osiągając najwyższy poziom przy stężeniu metali w mieszaninie na poziomie 1,5 mM. Przy wyższych stężeniach (2-3 mM) obserwowano stopniowy spadek akumulacji tego metabolitu. Analiza kontrastów wykazała synergistyczne działanie niklu względem miedzi w indukcji biosyntezy metabolitów fenolowych i akumulacji wolnej – aktywnej biologicznie – formy kwasu salicylowego przy jednoczesnym występowaniu obu tych metali w pożywce.

Wzmoczonej akumulacji kwasu salicylowego towarzyszył wzrost produkcji glutationu w liściach mieszańca, istotnie skorelowany z poziomem metali w pożywce ($R^2=0,6487$). Jednocześnie, nie stwierdzono akumulacji fitochelatyn w tym organie. Najwyższą zawartość

tripeptydu - na poziomie $218 \mu\text{g g}^{-1}$ ś.m. i wynoszącą $\sim 340\%$ zawartości w liściach roślin kontrolnych - odnotowano przy stężeniu $2,5 \text{ mM}$ obu metali w pożywce. Podobnie jak w przypadku metabolitów fenolowych, obserwowano efekt synergistyczny współwystępowania miedzi i niklu w podłożu i intensyfikację akumulacji glutationu względem układów jednoczynnikowych.

Wnioski:

- Stwierdzono istotny wpływ metali ciężkich na parametry biomasy roślin, poziom metabolitów pierwotnych i wtórnych w wyniku ich interakcji o charakterze addytywnym, synergistycznym lub antagonistycznym w podłożu. Określenie rodzaju tych interakcji jest kluczowe z punktu widzenia zastosowania roślin w fitoremediacji i rekultywacji terenów, na których obserwujemy mieszane zanieczyszczenie metaliczne gleby.
- Wykazano, że występowanie miedzi i niklu w podłożu na zbliżonym poziomie stężeń zwiększa translokację obu metali do liści mieszańca *Salix purpurea* × *viminalis*.
- Stwierdzono, że akumulacja metali w tkance fotosyntetycznej prowadzi do zmian w metabolizmie wtórnym, w tym do wzmożonej akumulacji związków fenolowych i glutationu o właściwościach chelatujących i przeciwulteniających. Po raz pierwszy wykazano różnice w mechanizmach detoksykacji miedzi i niklu u badanego mieszańca, tj. poziom miedzi w liściach jest skorelowany liniowo z zawartością glutationu, natomiast w detoksykacji niklu biorą udział zarówno metabolity fenolowe jak i glutation.
- Potwierdzono, że wzmożona biosynteza metabolitów fenolowych u roślin poddanych działaniu metali ciężkich jest wynikiem zaburzeń w metabolizmie pierwotnym a w konsekwencji nagromadzenia węglowodanów rozpuszczalnych w wodzie (glukozy, fruktozy i sacharozy) wykazujących funkcje substancji sygnałowych oraz donorów węgla strukturalnego.
- Wykazano, że współwystępowanie miedzi i niklu w podłożu wpływa synergistycznie na poziom metabolitów pierwotnych (glukozy, fruktozy) i wtórnych (związków fenolowych, glutationu), co świadczy o wzroście ich wpływu na rośliny wierzby i nasileniu mechanizmów wewnątrzkomórkowej reakcji obronnej względem pojedynczych metali.
- Udowodniono różnice w indukcji metabolizmu wtórnego przez badane metale. Stwierdzono, że miedź indukuje nagromadzenie sacharozy w liściach wierzby w stopniu większym niż nikiel, pod wpływem którego występuje silniejsza akumulacja kwasu salicylowego. Wskazuje to na istotne różnice w odpowiedzi mieszańca na podwyższone zawartości tych metali w podłożu.

- Wykazano, że nikiel indukuje wzmożoną biosyntezę glutationu, której poziom koreluje z zawartością kwasu salicylowego w liściach wierzby (głównie w formie wolnej), co stanowi dowód na udział tego fenolokwasu w indukcji biosyntezy glutationu i prawdopodobnej inhibicji syntazy fitochelatynowej pod wpływem tego metalu.

ZRÓŻNICOWANY WPŁYW NIEORGANICZNYCH I ORGANICZNYCH FORM ARSENU ORAZ ICH INTERAKCJI NA METABOLIZM FENOLOWY WIĄZU SZYPUŁKOWEGO

Drzewiecka K., M. Gąsecka, P. Rutkowski, Z. Magdziak, P. Goliński, M. Mleczek (2017) Arsenic forms and their combinations induce differences in phenolic accumulation in Ulmus laevis Pall. Journal of Plant Physiology, 220: 34–42. (35 pkt. MNiSW; IF₂₀₁₆=3,121) (zał. 4, praca: IB4)

Zanieczyszczenie gleby arsenem (As) stanowi rosnący problem w wielu rejonach świata, wynikający głównie z wydobycia bogatych w arsen minerałów sulfidowych żelaza i miedzi. Nawet na terenie południowo-zachodniej Polski, wskutek działania przemysłu wydobywczego, zawartość tego metaloidu w glebie sięga 18 g kg⁻¹ s.m. i przekracza 450-krotnie górną granicę wartości tła. Oprócz przemysłu wydobywczego i hutniczego, do zanieczyszczenia gleb arsenem przyczynia się również stosowanie środków ochrony roślin na bazie arsenikaliów oraz irygacja pól wodami zanieczyszczonymi tym metaloidem. W przypadku terenów rolniczych, problem zanieczyszczenia gleb arsenem, a w konsekwencji zanieczyszczenia ziemiopłodów, dotyczy obecnie wielu czołowych krajów - producentów żywności, jak: Chiny, Indie, Pakistan czy Stany Zjednoczone.

Zarówno w środowisku glebowym, jak i w komórkach roślinnych, arsen podlega odwracalnym przemianom enzymatycznym i nieenzymatycznym między jego formami nieorganicznymi (As^{III} i As^V) oraz organicznymi - głównie monometylo- i dimetyloarsenem (odpowiednio MMA i DMA) o zróżnicowanej biodostępności i toksyczności. Mechanizm toksyczności As^V opiera się na konkurencyjnym wykluczaniu fosforu nieorganicznego z ważnych reakcji biochemicznych, takich jak fosforylacja ADP w mitochondriach, natomiast w przypadku As^{III} stwierdza się inhibicję enzymów wskutek wiązania metaloidu z grupą sulfhydrylową. Ponadto obie formy nieorganiczne arsenu wywołują nadprodukcję reaktywnych form tlenu, co skutkuje wystąpieniem stresu oksydacyjnego. Ogólnie, formy organiczne arsenu uważane są za mniej toksyczne dla roślin, aczkolwiek obecnie dysponujemy jedynie ograniczonymi informacjami na temat mechanizmów ich fitotoksyczności. Przedstawione wyniki stanowią nowe informacje w skali światowej w tak bardzo aktualnym temacie toksyczności arsenu i reakcji obronnej roślin o dużej odporności na podwyższone zawartości tego metaloidu

w glebie.

Celem pracy było określenie wpływu nieorganicznych i organicznych form arsenu oraz ich jednoczesnego oddziaływania na metabolizm fenolowy, ze szczególnym uwzględnieniem akumulacji kwasu salicylowego. Obiektem badań był wiąz szypułkowy (*Ulmus laevis*) - gatunek o potwierdzonym wysokim, w porównaniu z innymi gatunkami roślin drzewiastych, potencjale do zastosowania w fitoremediacji gleb zanieczyszczonych arsenem. Dwuletnie sadzonki wiązu uprawiano w warunkach szklarniowych na pożywce Knopa zawierającej 0,06 mM arsen w formie metaarsenu sodu (NaAsO_2), arsenianu disodowego (Na_2AsO_4) lub kwasu dimetyloaresnowego ($((\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{O})\text{OH})$) oraz ich równomolowych mieszanin dwu- i trójskładnikowych. Po trzech miesiącach uprawy, w zebranych materiale roślinnym (korzenie i liście) analizowano zawartość wolnego i związanego kwasu salicylowego. Równolegle, oznaczano całkowitą zawartość związków fenolowych oraz przeprowadzono ich profilowanie z wykorzystaniem ultraszybkiej chromatografii ciekowej (UPLC). W celu określenia związku między akumulacją arsenu, zawartością metabolitów fenolowych a poziomem stresu oksydacyjnego, oznaczano również stopień uszkodzenia błony komórkowej w reakcji dialdehydu malonowego z kwasem tiobarbiturowym. Prace te stanowią jedno z zadań badawczych w realizowanym obecnie projekcie pt.: „Potencjał fitoremediacyjny rodzimych gatunków drzew i krzewów rosnących na ekstremalnie zanieczyszczonych metalami śladowymi i metaloidami osadach poflotacyjnych”, będącego kontynuacją projektu rozwojowego pt.: „Uprawy odmian wierzby na nieużytkach oraz na terenach zdegradowanych i chemicznie zanieczyszczonych, celem efektywnego pozyskania biomasy, surowca budowlanego i energetycznego oraz fitoremediacji środowiska” (N R12 0065 10), realizowanych pod kierownictwem Pana prof. dr. hab. Piotra Golińskiego.

W opisanym doświadczeniu, obecność arsenu w podłożu (bez względu na jego formę) wywołała każdorazowo wzmożoną akumulację kwasu salicylowego w liściach wiązu, sięgającą nawet $\sim 4,2 \mu\text{g g}^{-1}$ ś.m. (suma formy wolnej i związanej z glukozą) i stanowiącą $\sim 300\%$ zawartości metabolitu odnotowanego u roślin kontrolnych. Jednocześnie, po upływie trzech miesięcy uprawy, nie stwierdzono akumulacji kwasu salicylowego w systemie korzeniowym, co może być związane z transportem wolnego kwasu salicylowego (jako produktu szlaku kwasu szikimowego) ze strefy korzeniowej do części nadziemnej rośliny celem ochrony układu fotosyntetycznego lub ograniczeniem syntezy SA. Znaczny wzrost zawartości tego metabolitu w tkankach asymilacyjnych przy jednoczesnym niskim i stałym poziomie w korzeniach obserwowano wcześniej u różnych gatunków roślin poddanych długotrwałemu działaniu zarówno biotycznych, jak i abiotycznych czynników stresowych. Wzrost akumulacji wolnego kwasu salicylowego (SA) w liściach względem kontroli był porównywalny dla wszystkich

zastosowanych form arsenu (As^{III} , As^V , DMA). W przypadku mieszaniny form nieorganicznych (As^{III} i As^V), efekt ten miał charakter addytywny, natomiast dodatek arsenu organicznego (DMA) znacznie obniżał wpływ form nieorganicznych na poziom metabolitu w liściach. Jednocześnie, obserwowano istotny wzrost zawartości dialdehydu malonowego świadczący o intensyfikacji reakcji utlenienia lipidów błon komórkowych i wskazujący na ochronne działanie kwasu salicylowego w odpowiedzi roślin na toksyczne działanie arsenu. Antagonistyczne działanie DMA względem As^{III} i As^V obserwowano również dla reakcji glikozylacji SA (stopnia przekształcania w glukozyd), co wskazuje na negatywny wpływ arsenu organicznego na mechanizm magazynowania w liściach aktywnej formy tego metabolitu. Przypuszczenie to potwierdza również silna korelacja zawartości SA i kwasu gentyzynowego – pierwszego produktu reakcji katabolicznych SA, stwierdzona w liściach ($r=0,90$) oraz akumulacja kwasu gentyzynowego w korzeniach pod wpływem DMA. Ponadto, akumulacji kwasu salicylowego w liściach towarzyszył wzrost zawartości fenylopropanoidów z grupy C6C3 i ich pochodnych, tj. kwasów kawowego, chlorogenowego, *p*-kumarowego, synapinowego oraz flawonoidów katechiny i witeksyny o silnych właściwościach antyoksydacyjnych ($r=0,78-0,55$). Natomiast negatywną korelację zaobserwowano między zawartością kwasów salicylowego i galusowego ($r=-0,42$), co wskazuje na konkurencyjną biosyntezę tych dwóch metabolitów. Biorąc pod uwagę akumulację poszczególnych związków fenolowych oraz specjację arsenu w organach wiązu, stwierdzono, że wzrost poziomu wolnego kwasu salicylowego w tkance asymilacyjnej wynikał głównie z intensywnej akumulacji As^V w korzeniu ($r=0,80$) i był wynikiem aktywacji zarówno szlaku fenylopropanoidowego w liściach, jak i szlaku kwasu szikimowego w korzeniach oraz transportu metabolitu z korzeni do organów nadziemnych rośliny.

Wnioski:

- Wykazano, że obecność arsenu w podłożu wywołuje zmiany w metabolizmie fenolowym w organach podziemnych i nadziemnych wiązu szypułkowego, których charakter i nasilenie zależą od formy metaloidu.
- Stwierdzono, że intensyfikacja metabolizmu fenolowego pod wpływem arsenu dotyczy głównie liści, zaś w mniejszym stopniu korzeni wiązu, co może wynikać z wpływu światła na metabolizm fenylopropanoidowy.
- Udowodniono, że akumulacja organicznych form arsenu w korzeniu (w tym DMA i MMA) wywołuje indukcję szlaku kwasu szikimowego i wzmożoną akumulację kwasu protokatechowego – dihydroksypochodnej kwasu benzoowego o silnych właściwościach chelatujących i antyoksydacyjnych.

- W przeciwieństwie do korzeni, obecność arsenu w podłożu (za wyjątkiem As^{III}) wywołuje inhibicję szlaku kwasu szikimowego i indukcję konkurencyjnego szlaku fenylopropanoidowego z towarzyszącą akumulacją kwasów C6C3 (kawowego, *p*-kumarowego i chlorogenowego) w liściach.
- Wykazano, że obecność arsenu w podłożu wywołuje wzrost poziomu wolnego kwasu salicylowego w tkance asymilacyjnej związany głównie z intensywną akumulacją As^V w korzeniu i będący wynikiem aktywacji zarówno szlaku kwasu szikimowego jak i fenylopropanoidowego oraz transportu metabolitu z korzeni do organów nadziemnych.
- Po raz pierwszy wykazano, że arsen organiczny wpływa negatywnie na poziom wolnego kwasu salicylowego w liściach wiązu oraz reakcję glukozylacji tego metabolitu, obniżając tym samym poziom glukozydu o funkcji magazynowej.
- Udowodniono, że łączny wpływ form nieorganicznych arsenu na akumulację kwasu salicylowego ma charakter addytywny, natomiast obecność DMA ogranicza gromadzenie tego metabolitu w liściach wiązu wywołane przez As^{III} i As^V .
- Ograniczeniu akumulacji kwasu salicylowego w liściach wiązu przez DMA towarzyszy intensyfikacja stresu oksydacyjnego i w efekcie nasilenie stopnia uszkodzenia błon komórkowych. Wskazuje to jednoznacznie na kluczową rolę tego metabolitu w odpowiedzi roślin tego gatunku na toksyczne działanie arsenu.

WPLYW MIESZANEGO ZANIECZYSZCZENIA JONAMI METALI NATURALNYCH EKOSYSTEMÓW WODNYCH NA AKUMULACJĘ KWASU SALICYLOWEGO W ORGANACH TRZCINY POSPOLITEJ

Drzewiecka K., M. Mleczek (2017) Salicylic acid accumulation as a result of Cu, Zn, Cd and Pb interactions in common reed (Phragmites australis) growing in natural ecosystems. Acta Physiologiae Plantarum, 39:182. (25 pkt. MNiSW; IF₂₀₁₆=1,364) (zał. 4, praca: IB5)

Zastosowanie makrofitów, w tym gatunków wrażliwych (np. pałka wąskolistna) oraz tolerancyjnych o właściwościach akumulatorowych (np. trzcina pospolita) w metodach bioindykacji stanu czystości wód zyskuje coraz większe zainteresowanie wśród ekologów i ekotoksykologów. Ponadto, gatunki roślin wodnych o dużej tolerancji i zdolnościach akumulacyjnych znajdują zastosowanie w fitoekstrakcji jonów metali ciężkich z wód i rekultywacji terenów zdegradowanych. Przykładem takiego makrofitu jest trzcina pospolita (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.) - gatunek zasiedlający strefę litoralną nawet silnie zanieczyszczonych zbiorników wodnych i rzek oraz rozpowszechniony w niemal wszystkich

strefach klimatycznych. Celem przedstawionej pracy było określenie przydatności kwasu salicylowego jako biochemicznego wskaźnika oddziaływania mieszanych zanieczyszczeń metalicznych na ten gatunek. Ponadto celem badań była weryfikacja jednoczynnikowych układów doświadczalnych realizowanych w warunkach kontrolowanych względem naturalnych warunków środowiskowych, w których najczęściej obserwujemy jednoczesne występowanie zanieczyszczeń znacząco modyfikujące ich toksyczność.

Rośliny trzciny pospolitej pobierano czterokrotnie w sezonie wegetacyjnym 2014 roku z czterech zbiorników wodnych usytuowanych w zlewni rzeki Bogdanka (Jezioro Kierskie, Jezioro Strzeszyńskie, Jezioro Rusałka, Staw Sołacki). Stanowiska poboru prób zlokalizowano zarówno na terenach podmiejskich, jak i w bliskim sąsiedztwie centrum aglomeracji poznańskiej w celu zróżnicowania źródeł i poziomu zanieczyszczeń metalicznych. Ze względu na silną antropopresję występującą na badanym terenie oraz znaczny spływ powierzchniowy wód opadowych, zlewnia rzeki Bogdanka - wraz z wymienionymi zbiornikami - od wielu lat stanowi obiekt badań nad poziomem, rozmieszczeniem i sezonowością zanieczyszczeń w elementach abiotycznych i biotycznych występujących tam ekosystemów. W zebranych materiale roślinnym (liście i kłącza) przeprowadzono również analizę zawartości wybranych metali, których poziom w latach poprzednich przekraczał średni próg fitotoksyczności (Cu, Pb, Cd) lub średnią naturalną zawartość w tkankach roślin (Zn).

Średnia roczna zawartość badanych metali w organach trzciny pospolitej osiągała każdorazowo wyższe wartości w kłączu niż w organach fotosyntetycznych, przy czym najwyższą akumulację odnotowano dla cynku, średnią dla miedzi i ołowiu, natomiast najniższą w przypadku kadmu (niezależnie od badanego organu). Największa wartość współczynnika translokacji kłącze - liść cechowała cynk (0,93), mniejsza i porównywalna ołów i kadm (0,70 i 0,65), najmniejsza zaś miedź (0,40). Akumulacja wszystkich badanych metali w obu organach trzciny pospolitej wykazywała powolny wzrost w czasie trwania okresu wegetacyjnego, mimo intensywnego przyrostu biomasy makrofitu w miesiącach letnich i obserwowanego zwykle efektu „naturalnego rozcieńczenia” metali.

Równoległe do oznaczeń zawartości metali prowadzono analizę wolnego i związanego kwasu salicylowego w zgromadzonym materiale roślinnym. Każdorazowo, wielokrotnie wyższą zawartość metabolitu odnotowano w liściach niż w kłączu trzciny pospolitej, zaś najwyższe zawartości sięgały ~25 i 0,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ ś.m. (odpowiednio dla liści i kłaczy). Uzyskane wyniki znacznie przewyższały udokumentowane w literaturze wartości stwierdzone u roślin kontrolnych (nienarażonych na działanie czynników stresowych) kształtujące się na poziomie od kilku ng do około 1 $\mu\text{g g}^{-1}$ ś.m. (w zależności od gatunku). Wzmożona biosynteza kwasu salicylowego występowała w okresach najsilniejszego wzrostu roślin, któremu towarzyszy

intensywny pobór substancji odżywczych z podłoża. W kłączach, najwyższy poziom kwasu salicylowego obserwowano już w maju. Następnie wraz ze wzrostem biomasy liści, odnotowano znaczny spadek zawartości metabolitu w kłączu spowodowany prawdopodobnie transportem jego formy aktywnej do organów fotosyntetyzujących makrofitu. Wzmożoną akumulację kwasu salicylowego w liściach wykazano w lipcu, z późniejszym stopniowym spadkiem we wrześniu i listopadzie, wynikającym prawdopodobnie m.in. z reakcji katabolicznych, czy też emisji lotnego estru metyloвого bądź jego polimeryzacji do ligniny. Warto zauważyć, że na przestrzeni całego okresu wegetacyjnego, wraz ze wzrostem akumulacji kwasu salicylowego w liściach obserwowano logarytmiczny spadek jego zawartości w kłączu. Wskazuje to na kluczowe znaczenie badanego metabolitu głównie w ochronie układu asymilacyjnego rośliny przed niekorzystnymi czynnikami środowiskowymi. Ponadto udział procentowy formy wolnej w całkowitej zawartości kwasu salicylowego (suma formy wolnej i glukozydowej) kształtował się na istotnie wyższym poziomie w kłączu niż w liściach (średnio odpowiednio ~80 i 58%) wskazując na aktywny mechanizm magazynowania metabolitu głównie w organach nadziemnych.

Analiza regresji wielorakiej wykazała lepsze dopasowanie zależności prostoliniowej ($R^2=0,9969-0,9876$, $p \leq 0,001$) przy uwzględnieniu wpływu wszystkich analizowanych metali na poziom kwasu salicylowego niż w przypadku analizy wpływu pojedynczej zmiennej (metal) ($-0,48 \leq r \leq 0,44$). Potwierdziło to założenie o istnieniu interakcji między metalami wpływających na poziom stresu oksydacyjnego i aktywację mechanizmów odpowiedzi obronnej. Zawartość kwasu salicylowego w liściach trzciny pospolitej była silnie skorelowana z akumulacją cynku w kłączu, natomiast obecność tego metalu w organach nadziemnych stymulowała przekształcanie metabolitu do formy glukozydu. Jednocześnie wraz ze wzrostem akumulacji miedzi malał wpływ cynku na indukcję biosyntezy kwasu salicylowego i jego akumulację w obu organach. Uzyskane wyniki potwierdzają konkurencyjny charakter obu metali obserwowany w środowisku i wskazują jednoznacznie na antagonistyczne działanie miedzi w stosunku do cynku także w indukcji wewnątrzkomórkowych mechanizmów odpowiedzi roślin na stres. Dla kadmu wykazano dodatni wpływ na akumulację kwasu salicylowego jedynie w kłączu, natomiast wzrost akumulacji tego metalu w liściach nie wpływał istotnie na poziom tego metabolitu. W przypadku ołowiu, wzrost zawartości metalu w liściach prowadził do redukcji poziomu wolnego kwasu salicylowego i jednocześnie indukował jego magazynowanie w formie glukozydu.

Wnioski:

- Zanieczyszczenie naturalnych ekosystemów metalami ciężkimi indukuje złożoną odpowiedź roślin na stres, w tym prowadzi do wzmożonej biosyntezy kwasu salicylowego – kluczowego metabolitu z grupy związków fenolowych, pełniącego funkcje regulatorowe i sygnałne.
- Po raz pierwszy w warunkach środowiskowych wykazano, że poziom kwasu salicylowego, stopień jego translokacji z korzeni do części nadziemnych rośliny oraz wiązania z glukozą (przekształcenia do formy magazynowej) są wynikiem antagonistycznych i synergistycznych interakcji między jonami metali zakumulowanymi przez roślinę.
- Wśród analizowanych metali, największą zdolność do indukcji akumulacji kwasu salicylowego wykazuje cynk i dotyczy ona zarówno kłączy jak i liści trzciny pospolitej.
- W warunkach współwystępowania w środowisku, miedź wykazuje silne działanie antagonistyczne względem cynku nie tylko na etapie pobierania i akumulacji, lecz również w indukcji wewnątrzkomórkowej odpowiedzi rośliny na stres i biosyntezy kwasu salicylowego.
- Wykazano, że wzrost poziomu kadmu wywołuje wzmożoną akumulację kwasu salicylowego w kłączy, natomiast wzmożona akumulacja ołowiu, przy współwystępowaniu z innymi metalami, ogranicza nagromadzenie kwasu salicylowego w organach fotosyntetycznych i stymuluje tworzenie formy magazynowej SA (glukozydu).
- Udowodniono, że zawartość kwasu salicylowego stanowić może biochemiczny wskaźnik łącznego oddziaływania zanieczyszczeń środowiska na rośliny.

**WPLYW OBECNOŚCI JONÓW METALI CIĘŻKICH W PODŁOŻU ORAZ ICH INTERAKCJI NA AKTYWNOŚĆ
LAKAZY, ZDOLNOŚCI BIOAKUMULACYJNE I POLONOWANIE BOCZNIAKA MIKOŁAJKOWEGO**

Drzewiecka K., M. Siwulski, M. Mleczek, P. Goliński, K. Sobieralski (2012) Bioaccumulation of heavy metals from artificially enriched substrates and their impact on physiology of King Oyster mushroom (Pleurotus eryngii) Fresenius Environmental Bulletin, 21: 1666-1674. (15 pkt. MNiSW; IF₂₀₁₂=0,641) (zał. 4, praca: IB6)

Bocznik mikołajkowy (*Pleurotus eryngii*) należy do grupy grzybów białej zgnilizny drewna i zyskuje coraz większe zainteresowanie wśród producentów z uwagi na zbliżone do popularnego bocznika ostrygowatego (*P. ostreatus*) wymagania w uprawie na podłożach lignocelulozowych, jak i walory smakowe oraz cenne właściwości prozdrowotne. W naturze jest grzybem saprofitycznym, rozpowszechnionym w środkowej Azji i strefie śródziemnomorskiej,

gdzie z powodzeniem zasiedla środowisko glebowe. W ostatnich latach, badania modelowe wskazały na znaczący potencjał tego gatunku do skutecznej degradacji trwałych zanieczyszczeń organicznych w glebie, jak również do mykoekstrakcji metali ciężkich i radionuklidów. Badania przedstawione w powyższej pracy dotyczą zdolności bocznika mikołajkowego do akumulacji wybranych metali ciężkich oraz wpływu tych zanieczyszczeń na rozwój grzybni i plonowanie i uzupełniają dotychczasowy stan wiedzy. Ponadto, przeprowadzono pionierskie badania nad wpływem metali i ich mieszaniny na aktywność lakazy (w dwóch fazach rozwoju grzybni) – enzymu ligninolitycznego warunkującego rozkład podłoża i wzrost grzybni oraz decydującego o efektywności degradacji ksenobiotyków. Wcześniejsze badania potwierdziły dominację lakazy w kompleksie enzymatycznym wydzielanym przez grzybnię *P. eryngii* do podłoża i były podstawą do przyjęcia aktywności tego enzymu jako fizjologicznego wskaźnika oddziaływania zanieczyszczeń gleby/podłoża na ten gatunek. Interakcje między jonami metali, jak i wspólne występowanie zanieczyszczeń metalicznych i organicznych są zjawiskami powszechnymi w środowisku zdegradowanym i - poprzez wpływ na aktywność lakazy - mogą znacząco ograniczać efektywność mykoremediacji. Przedstawiona praca dostarcza pierwszych informacji na temat wpływu współistnienia i możliwych interakcji między metalami na ich akumulację, parametry fizjologiczne, wzrost grzybni oraz owocowanie *P. eryngii*.

Uprawę bocznika mikołajkowego prowadzono w warunkach kontrolowanych przy dodatku bivalentnych jonów metali ciężkich, tj. kadmu, kobaltu, miedzi, niklu i cynku do standardowego podłoża uprawowego. Sole metali dodawano na etapie przygotowania podłoża do uprawy uzyskując zawartości na poziomie 1, 5 i 10 mmoli kg⁻¹ ś.m. (mM). Dodatkowo, zastosowano równomolową kombinację jonów wymienionych metali, tj. 1 mM każdego z nich.

Spośród zastosowanych metali, miedź, kobalt i nikiel najsilniej ograniczały wzrost grzybni (o ~50% względem kontroli przy dodatku 10 mM), przy czym efekt ten wykazywał zależność liniową od zawartości metalu w podłożu. Natomiast dodatek cynku i kadmu wywoływał zahamowanie wzrostu grzybni utrzymujące się na poziomie ~10% niezależnie od użytego stężenia. Przy dodatku metali w formie mieszaniny, obserwowano spadek tempa wzrostu grzybni porównywalny jak przy 1 mM dodatku pojedynczych metali (Cu, Co i Ni).

Dodatek mikroelementów (Cu, Zn) w stosowanym zakresie stężeń nie wpływał negatywnie na wielkość plonu bocznika. Pozostałe metale (Co, Ni, Cd) przy niższych stężeniach (1 i 5 mM) pobudzały grzybnię do owocowania, natomiast przy stężeniu 10 mM tych metali obserwowano spadek wielkości plonu średnio o połowę względem kontroli. Dodatek metali w formie mieszaniny wywołał nieznaczne obniżenie plonowania względem dodatku 1 mM metalu w układzie jednoczynnikowym.

Akumulacja metali w owocnikach *P. eryngii* wzrastała wprost proporcjonalnie do zawartości metali w podłożu osiągając najwyższe wartości odpowiednio dla Zn>Co>Ni>Cu>Cd wynoszące ~68, 57, 24, 15 i 4 mg kg⁻¹ s.m. przy najwyższym zastosowanym stężeniu (10 mM). Wartość wskaźnika bioakumulacji (BAF) kształtowała się na średnim i niskim poziomie wynosząc odpowiednio 0,101, 0,097, 0,039, 0,024 i 0,003. Dodatek mieszaniny metali skutkował prawie dwukrotnym wzrostem akumulacji niklu z towarzyszącym mu znacznym spadkiem pobierania miedzi i kobaltu (odpowiednio o ~40 i 30% względem dodatku pojedynczego metalu). W przypadku pozostałych metali (Zn, Cd) nie zaobserwowano istotnego wpływu łącznego występowania metali na ich akumulację.

Dodatek miedzi, kobaltu i niklu silnie indukował aktywność lakazy przy całkowitym przerośnięciu podłoża w fazie inkubacji grzybni. Obserwowano wzrost aktywności enzymu z ~200 do odpowiednio ~1300, 1100 i 650 nkat kg⁻¹ ś.m. przy dodatku metali do podłoża na poziomie 10 mM. Pozostałe metale (Zn, Cd) oraz dodatek mieszaniny metali jedynie nieznacznie indukowały aktywność lakazy w porównaniu z kontrolą. Przy stężeniu na poziomie 1 mM, jednoczesna aplikacja metali obniżała istotnie wpływ miedzi i niklu na aktywność tego enzymu.

Aktywność lakazy oznaczano również w podłożu po zbiorze owocników. W odróżnieniu od podłoża po fazie inkubacji, dodatek metali prowadził do zahamowania aktywności tego enzymu już przy dodatku na poziomie 1 mM, tj. z ~18000 nkat kg⁻¹ ś.m. dla kontroli do ~16000, 7500, 6000, 3900 i 3700 nkat kg⁻¹ ś.m., odpowiednio dla Zn, Co, Cd, Ni i Cu. Natomiast przy najwyższym stężeniu jonów metali (10 mM) aktywność ta wynosiła ~80-600 nkat kg⁻¹ ś.m., co stanowiło jedynie ~0,45-3,33% aktywności lakazy w próbie kontrolnej. Dodatek metali w formie mieszaniny drastycznie obniżał aktywność tego enzymu w porównaniu do 1 mM dodatku pojedynczego metalu i prawie 100-krotnie względem kontroli.

Wnioski:

- Wykazano, że obecność Cu, Co i Ni w podłożu hamuje wzrost grzybni *Pleurotus eryngii* wprost proporcjonalnie do stężenia metalu (w zakresie 1-10 mM) mimo znacznej indukcji aktywności lakazy w podłożu. Pozostałe metale (Zn i Cd) ograniczają rozwój grzybni jedynie o ~10% (niezależnie od stężenia) i tylko nieznacznie indukują aktywność lakazy.
- W przypadku mieszaniny metali, ich negatywny wpływ na przerastanie podłoża nie wykazuje charakteru addytywnego, natomiast obniża indukcję lakazy do poziomu kontroli.
- Biorąc pod uwagę produkcję biomasy owocników, bocznik mikołajkowy cechuje się większą odpornością na działanie metali ciężkich niż większość roślin używanych

w fitoremediacji gleb zanieczyszczonych jonami metali i plonuje nawet przy stężeniach rzędu 10 mM.

- Stwierdzono, że obecność metali ciężkich w stężeniach 1-5 mM nie wpływa negatywnie na wielkość plonu a nawet nieznacznie indukuje owocowanie. Dopiero przy stężeniu na poziomie 10 mM dla Co, Ni i Cd obserwuje się redukcję plonowania *P. eryngii*.
- Metale występujące w formie mieszaniny nie wpływają istotnie na wielkość plonu względem uprawy kontrolnej.
- Spośród badanych metali *P. eryngii* najsilniej akumuluje Zn, najslabiej Cd, przy czym poziom metali w owocnikach grzybowych jest wprost proporcjonalny do stężenia metalu w podłożu (w stosowanym zakresie stężeń, tj. 1 – 10 mM).
- Wartości wskaźnika bioakumulacji wskazują na średnie i słabe (zależnie od metalu) właściwości sorpcyjne badanych jonów metali przez ten gatunek.
- Przy mieszanym zanieczyszczeniu podłoża metalami wykazano, że Ni wykazuje silne właściwości konkurencyjne, co skutkuje prawie dwukrotnym wzrostem jego akumulacji (przy stężeniu na poziomie 1 mM) i ograniczeniem pobierania Cu i Co.
- Wykazano, że w podłożu po zbiorze owocników, obecność metali (w szczególności Ni i Cu) drastycznie obniża aktywność lakazy, przy czym efekt ten ma charakter addytywny w przypadku ich mieszaniny, co może wykluczać możliwość ponownego plonowania i mykoekstrakcji metali, jak również rozkład ksenobiotyków przez grzybnię po fazie owocowania.

PODSUMOWANIE WYNIKÓW BADAŃ DOTYCZĄCYCH OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO:

Do najważniejszych osiągnięć przedstawionych powyżej prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego zaliczam wyjaśnienie bądź istotne rozszerzenie stanu wiedzy nt.:

- zróżnicowanego wpływu miedzi i niklu na biosyntezę kwasu salicylowego u mieszańca wierzby o istotnej przydatności w fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi w reakcji na ich podwyższone zawartości w podłożu;
- interakcji między miedzią a niklem występujących na skutek ich współwystępowania w podłożu i wpływających na fitotoksyczność oraz natężenie reakcji obronnej;
- zróżnicowania poziomu i mechanizmów fitotoksyczności nieorganicznych i organicznych form arsenu oraz wpływu ich wzajemnych przemian i interakcji na akumulację kwasu salicylowego w liściach wiązu szypułkowego;

- złożonej funkcji kwasu salicylowego w odpowiedzi roślin drzewiastych na stres wywołany przez metale ciężkie i metaloidy na tle innych produktów metabolizmu pierwotnego i wtórnego, w tym węglowodanów rozpuszczalnych w wodzie, innych związków fenolowych jako produktów dwóch szlaków (kwasu szikimowego i fenylopropanoidowego) oraz glutationu;
- przydatności kwasu salicylowego jako biomarkera negatywnego wpływu wywołanego przez mieszane zanieczyszczenia metaliczne u roślin pochodzących z naturalnych ekosystemów wodnych;
- wpływu metali ciężkich i ich interakcji na aktywność lakazy – kluczowego enzymu lignocelulitycznego decydującego o przydatności grzybni białej zgnilizny drewna do zastosowania w mykoremediacji zanieczyszczeń metalicznych i ksenobiotycznych.

Piśmiennictwo:

- ASSUN AGL, WM Ten Bookum, WM Nelissen, HJM Vooijs, H Schat, WHO Ernst (2003) A co-segregation analysis of Zn accumulation and Zn tolerance in the Zn hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytol* 159:383-390.
- BELKADHI A, H Hédiji, Z Abbes, W Djebali, W Chaïbi (2012) Influence of salicylic acid pre-treatment on cadmium tolerance and its relationship with non-protein thiol production in flax root. *Afr J Biotechnol* 11:9788-9796.
- BERKOWITZ O, I De Clercq, F Van Breusegem, J Whelan (2016) Interaction between hormonal and mitochondrial signalling during growth, development and in plant defence responses. *Plant Cell Environ*, 39:1127-1139.
- BIAŁOŃSKA D, AM Zobel, M Kuraś, T Tykarska, K Sawicka-Kapusta (2007) Phenolic compounds and cell structure in bilberry leaves affected by emissions from a Zn–Pb smelter. *Water Air Soil Pollut* 181:123-133.
- CHEN C, D Huang, J Liu (2009) Functions and toxicity of nickel in plants. *Clean* 37:304-313.
- CHOUDHURY S, SK Panda (2004) Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oryza sativa* L. Roots. *Bulg J Plant Physiol* 30:95-110.
- COLLIN-HANSEN CH, SA Pedersen, RA Andersen, E Steinnes (2007) First report of phytochelatinase in a mushroom: induction of phytochelatinase by metal exposure in *Boletus edulis*. *Mycologia*, 99: 161-174.
- ERNST WHO (2006) Evolution of metal tolerance in higher plants. *For Snow Landsc Res* 80:251-274.
- FREEMAN JL, MW Persans, K Nieman, C Albrecht, W Peer, IJ Pickering, DE Salt (2004) Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. *Plant Cell* 16:2176-2191.
- FREEMAN JL, D Garcia, D Kim, A Hopf, DE Salt (2005) Constitutively elevated salicylic acid signals glutathione-mediated tolerance in *Thlaspi* hyperaccumulators. *Plant Physiol* 137:1082-1091.
- FRIESL W, J Friedl, K Platzer, O Horak, MH Gerzabek (2006) Remediation of contaminated agricultural soils near a former Pb/Zn smelter in Austria: batch, pot and field experiments. *Environ Pollut* 144:40-50.
- GAJEWSKA E, M Sklodowska (2007) Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. *BioMetals* 20:27-36.
- GAŚECKA M, P Rzymiski, M Mleczek, M Siwulski, S Budzyńska, Z Magdziak, P Niedzielski, K Sobieralski (2017) The relationship between metal composition, phenolic acid and flavonoid content in *Ilmeria badia* from non-polluted and polluted areas. *J Environ Sci Heal B*. 52:171–177.

- GUALA SD, FA Vega, EF Covelo (2010) The dynamics of heavy metals in plant–soil interactions. *Ecol Model* 221:1148-1152.
- HALL JL (2002) Cellular mechanisms of heavy metal detoxification and tolerance. *J Exp Bot* 53:1-11. Kalac P., L. Svoboda. 2000. A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 69: 273-281.
- KOMANICKA E, H-S Helmisaari, M Hartman, TM Nieminen (2013) Effect of mulching on uptake of copper and nickel from smelter-polluted-soil by planted tree seedlings. *Open J Air Pollut* 2:56-62.
- KOVÁČIK J, J Grúz, M Bačkor, J Tomko, M Strnad, M Repčák (2008) Phenolic compounds composition and physiological attributes of *Matricaria chamomilla* grown in copper excess. *Environ Exp Bot* 62:145-152.
- KOVÁČIK J, J Grúz, J Hedbavny, B Klejdus, M Strnad (2009) Cadmium and nickel uptake are differentially modulated by salicylic acid in *Matricaria chamomilla* plants. *J Agric Food Chem* 57:9848-9855.
- KOVÁČIK J, B Klejdus, J Hedbavny, M Bačkora (2010) Effect of copper and salicylic acid on phenolic metabolites and free amino acids in *Scenedesmus quadricauda* (*Chlorophyceae*) *Plant Sci* 178:307-311.
- KOVÁČIK J, F Štork, B Klejdus, J Grúz, J Hedbavny (2012) Effect of metabolic regulators on aluminium uptake and toxicity in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Physiol Biochem* 54:140-148.
- LI Z-H, Q Wang, X Ruan, C-D Pan, D-A Jiang (2010) Phenolics and plant allelopathy. *Molecules* 15:8933-8952.
- MESTER T, M Tien (2000) Oxidation mechanism of ligninolytic enzymes involved in the degradation of environmental pollutants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46: 51-59.
- MICHALAK A (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish J Environ Stud* 15:523-530.
- PÁL M, G Szalai, E Hováth, T Janda, E Páldi (2002) Effect of salicylic acid during heavy metals stress. *Acta Biol Szeged* 46:119-120.
- POINTING SB (2001) Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology Biotechnology*, 57: 20-33.
- POPOVA L, T Pancheva, A Uzunova (1997) Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. *Bulg J Plant Physiol* 23:85-93.
- POPOVA L, L Maslenkova, R Yordanova, A Krantev, G Szalai, T Janda (2008) Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. *Gen Appl Plant Physiol* 34:133-148.
- PULFORD ID & C WATSON (2003) Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees - a review. *Environ Int* 29:529-540.
- RASKIN I (1992) Salicylate, a new plant phytohormone. *Plant Physiol* 99:799-803.
- SAMUEL MA, H Hall, M Krzymowska, K Drzewiecka, J Hennig, BE Ellis (2005) SIPK signaling controls multiple components of harpin-induced cell death in tobacco. *Plant J* 42:406-416.
- SANGLIMSUWAN S, N Yoshida, T Morinaga, Y Murooka (1993) Resistance and uptake of heavy metals in mushrooms. *J. Ferment. Bioeng*, 75: 112-4.
- SHAHID M, B Pourrut, C Durnat, M Nadeem, M Aslam, E Pinelli (2014) Heavy-metal-induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physiological changes in plants. *Rev Environ Contam Toxicol* 232:1—44.
- SINGH S, P Parihar, R Singh, VP Singh, SM Prasad (2016) Heavy metal tolerance in plants: Role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Front Plant Sci* 6:1143.
- VAN ASSCHE F, H Cijsters (1990) Effect of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ* 13:195-206.

5. OMÓWIENIE PRZEBIEGU PRACY ZAWODOWEJ, W TYM POZOSTAŁYCH FORM DZIAŁALNOŚCI NAUKOWO-BADAWCZEJ I DYDAKTYCZNEJ

Ukończenie z wyróżnieniem w roku 2001 studiów wyższych na kierunku Towaroznawstwo na Uniwersytecie Ekonomicznym w Poznaniu (ówczesnej Akademii Ekonomicznej w Poznaniu) i realizacja pracy magisterskiej pod kierunkiem śp. Pana prof. zw. dra hab. Jacka Koziola – Kierownika Katedry Analizy Instrumentalnej, przygotowało mnie do podjęcia pracy naukowo-badawczej i realizacji tematyki z pogranicza chemii, biologii i ochrony środowiska, której podstawą jest zobiektywizowana analityka chemiczna związków organicznych, w tym o właściwościach bioaktywnych i toksycznych. Już w czasie studiów odbyłam dwutygodniowe praktyki w Katedrze Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu (wówczas Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu) pod opieką Pana dra Mariana Kosteckiego, z zakresu metod instrumentalnych analizy chemicznej, w szczególności praktycznego zastosowania chromatografii cieczowej w badaniach biologicznych i kwantyfikacji metabolitów grzybów patogennych w ziarniakach zbóż. Ponadto, na ostatnim roku studiów odbyłam semestralny staż w Katedrze Analizy Instrumentalnej AE w Poznaniu, gdzie współprowadziłam ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotu Analiza instrumentalna dla studentów II-go roku kierunku Towaroznawstwo.

Bezpośrednio po ukończeniu studiów wyższych, podjęłam studia III-go stopnia kształcenia na Studium Doktoranckim przy Wydziale Ogrodniczym ówczesnej Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, realizując badania w Katedrze Chemii tej Uczelni pod opieką jej Kierownika - Pana prof. dra hab. Piotra Golińskiego. Od czerwca 2002 roku do obrony rozprawy doktorskiej w roku 2007 byłam zatrudniona w Katedrze na stanowisku asystenta w wymiarze pół etatu, czynnie uczestnicząc w szkoleniach z zakresu analityki chemicznej i wdrażaniu nowoczesnej aparatury badawczej dynamicznie rozwijającego się zaplecza aparaturowego Katedry Chemii, w tym chromatografów cieczowych w dwóch konfiguracjach z detektorami umożliwiającymi analizę szerokiego spektrum związków organicznych w próbkach naturalnych oraz chromatografu gazowego sprzężonego z najnowszej generacji spektrometrem mas. Jednocześnie podjęłam współpracę z Katedrą Fizjologii Roślin oraz Katedrą Ekologii i Ochrony Środowiska, ówczesnej Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, w ramach tematyki dotyczącej stresu oksydacyjnego wywołanego przez czynniki środowiskowe pochodzenia antropogenicznego (metale ciężkie, ozon troposferyczny) u roślin wskaźnikowych. Dzięki włączeniu w toczące się badania nad biomonitoringiem ozonu realizowane przez Panią dr inż. Klaudię Borowiak w ramach projektu kierowanego przez Panią prof. dr hab. Janinę Zbierską – wówczas Kierownika Katedry Ekologii

i Ochrony Środowiska UPP, sprecyzowałam cele i hipotezy badawcze mojej rozprawy doktorskiej.

Na wybór tematyki badawczej niewątpliwym wpływ miały międzynarodowe kursy środowiskowe odbyte w latach 2001 i 2002, w tym kurs szacowania wpływu ozonu troposferycznego na drzewostany organizowany w ramach Programu ICP-Forest w stacji eksperymentalnej OTC (Open Top Chamber) w Lottecaldò w Szwajcarii oraz Moggio Level II plot we Włoszech, a także intensywny kurs bioremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi i ksenobiotykami zorganizowany w ramach Programu Socrates w Tartu w Estonii, pt.: „Management and treatment of polluted soils in Europe”. Udział w ww. kursach, oprócz poszerzenia mojej wiedzy z zakresu oddziaływania zanieczyszczeń na środowisko przyrodnicze, uświadomił mi skalę tego problemu i utwierdził w celowości podjętej tematyki badawczej. Za szczególnie uzasadnione uznałam zastosowanie roślin o wysokiej tolerancji względem metali ciężkich do przywracania bioróżnorodności gatunkowej i rewitalizacji terenów skrajnie zanieczyszczonych i zdegradowanych wskutek niepohamowanej ekspansji przemysłu wydobywczego na przestrzeni ostatnich dekad. Z kolei gatunki/odmiany roślin wrażliwych mogą być wykorzystane do biomonitoringu zanieczyszczeń podlegających transgranicznemu przenoszeniu na duże odległości i dotyczących w dużej mierze terenów o niskiej antropopresji i z pozoru ekologicznie czystych. W obu przypadkach, główny nurt moich zainteresowań badawczych stanowiła metabolomika stresu oksydacyjnego i funkcja roślinnych metabolitów wtórnych w kształtowaniu zróżnicowanej odporności i właściwości akumulacyjnych roślin stosowanych w fitoremediacji i biomonitoringu zanieczyszczeń.

W roku 2003 otrzymałam stypendium Fundacji Małżeństwa Dekaban, w ramach którego odbyłam pięciomiesięczny staż w Michael Smith Biotechnology Laboratory na Uniwersytecie Kolumbii Brytyjskiej w Vancouver pod okiem Pana prof. Briana Ellisa i bezpośrednią opieką dra Markusa Samuela (obecnie prof. na Uniwersytecie w Calgary). W ramach stypendium uczestniczyłam w wielu seminariach tematycznych i realizowałam część badawczą projektu finansowanego przez Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, obejmującą oznaczenia kwasu salicylowego (SA) i jego glukozydu w liściach tytoniu szlachetnego (*Nicotiana tabacum* L.), w tym u roślin typu dzikiego oraz roślin transgenicznych typu NahG traktowanych biotycznymi i abiotycznymi czynnikami stresowymi (wirus mozaiki tytoniowej, bakteryjne białka elicytorowe i ozon). Uzyskane wyniki wskazały jednoznacznie na kluczową rolę kwasu salicylowego w niespecyficznej reakcji roślin tytoniu na stres, zarówno o pochodzeniu biotycznym, jak i abiotycznym i potwierdziły hipotezę co do przydatności tego metabolitu jako biomarkera oddziaływania czynników stresowych na rośliny i nasilenia zjawiska stresu oksydacyjnego. Skłoniło mnie to do weryfikacji tych wniosków w dotychczas realizowanych

przeze mnie układach doświadczalnych. Co więcej, badania te po raz pierwszy dowiodły udziału SA w mechanizmie wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału w odpowiedzi na stres i indukcję genów kodujących białka związane z patogenezą za pośrednictwem kinazy białkowej aktywowanej specyficznie przez badany metabolit. Osiągnięcie to zostało opublikowane w roku 2005 w renomowanym czasopiśmie o światowym zasięgu (zał. 4, praca: IIA21).

W latach 2003-2005 brałam udział w projekcie badawczym finansowanym przez MNiSW, pt.: „Ocena wpływu wybranych metalicznych pierwiastków śladowych na poziom roślinnych indykatorów stresu środowiskowego w ekosystemach wodnych” (zał. 4, pkt. 2F9) pod kierownictwem Pana prof. dra hab. Piotra Golińskiego, a realizowanym we współpracy z Katedrą Fizjologii Roślin oraz Katedrą Terenów Zieleni rodzimej Uczelni. Prace badawcze zapoczątkowane w tym projekcie, obejmujące biomonitoring metali ciężkich w ekosystemach wodnych aglomeracji poznańskiej, są kontynuowane do dnia dzisiejszego i były przedmiotem licznych prac dyplomowych studentów kierunku Ochrona Środowiska, w tym pracy magisterskiej, której byłam promotorem (zał. 4, pkt. IID3) oraz pięciu innych prac magisterskich realizowanych pod moją opieką. W ramach projektu powstało wiele oryginalnych prac publikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, w tym praca dokumentująca zróżnicowany wpływ akumulacji metali ciężkich na poziom kwasu salicylowego w organach powszechnie występującego makrofitu – trzciny pospolitej (*Phragmites australis*) występującej w warunkach naturalnych przy mieszanym zanieczyszczeniu metalicznym (zał. 4, prace: IB6, IIA2, IIA16, IIA20).

W roku 2007 obroniłam pracę doktorską zatytułowaną „Kwas salicylowy w reakcjach roślin na wybrane stresy środowiskowe” i decyzją Rady Wydziału Ogrodniczego Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego z dnia 25 września 2007 roku uzyskałam stopień doktora nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa. Od 1 marca 2008 jestem zatrudniona w Katedrze Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu na stanowisku adiunkta. W pierwszych latach po obronie rozprawy doktorskiej, uczestniczyłam - jako wykonawca - w dwóch projektach badawczych poświęconych chorobom grzybowym ważnych rolniczo roślin uprawnych (głównie fuzariozie szparaga i pszenicy ozimej) i towarzyszącemu im zjawisku stresu oksydacyjnego (zał. 4, pkt. IIF6, IIF8). We współpracy z Katedrą Fitopatologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz Zakładem Fizyki Medycznej Wydziału Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza wykazaliśmy zróżnicowaną wirulencję występujących powszechnie gatunków *Fusarium* i zdolność do indukowania stresu oksydacyjnego w organach badanych roślin uprawnych. Ponadto, przeprowadzone doświadczenia dowiodły również wpływu akumulacji toksyn fuzaryjnych na nadprodukcję wolnych rodników tlenowych i poziom stresu

oksydacyjnego w pędach szparaga wraz z towarzyszącą jej aktywacją mechanizmów obronnych i wzmożoną biosyntezą kwasu salicylowego (zał. 4, prace: IIA9, IIA14).

W latach 2009-2012 uczestniczyłam w projekcie pt.: „Badania reakcji wybranych gatunków roślin na ozon troposferyczny”, kierowanym przez Panią dr hab. Klaudię Borowiak, w którym – w roli wykonawcy - realizowałam prace będące kontynuacją tematyki rozprawy doktorskiej a poszerzone o gatunki roślin uprawnych (fasola biała) i ozdobnych (petunia), cechujących się znaczącą wrażliwością na obecność ozonu przygruntowego (zał.4, pkt. IIF5). Efektem tej wieloletniej współpracy z Katedrą Ekologii i Ochrony Środowiska UPP jest szereg prac dyplomowych (w tym praca magisterska, której byłam promotorem oraz anglojęzyczna praca licencjacka realizowana pod moją opieką a promotorstwem Pana prof. dra hab. Piotra Golińskiego) (zał. 4, pkt. IID3, IID4), jak również liczne publikacje z pogranicza ochrony środowiska i fizjologii roślin. dotyczących negatywnego wpływu ozonu na rośliny uprawne i mechanizm wewnątrzkomórkowej reakcji roślin na stres ozonowy (zał. 4, prace: IIA11, IIA13, IIA15, IIA19, IIB6).

W latach 2012-2017, w ramach współpracy z prof. dr hab. Iwoną Morkunas z Katedry Fizjologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, byłam zaangażowana w badania dotyczące wpływu czynnika biotycznego, mszycy grochowej (*Acyrtosiphon pisum* Harris) o zróżnicowanej liczebności populacji, na generowanie cząsteczek sygnałowych w komórkach liści siewek grochu (*Pisum sativum* L.cv. Cysterski). W latach 2011-2014 brałam udział w realizacji projektu badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki pt.: „Udział molekuł sygnałowych w odpowiedzi obronnej *Pisum sativum* na żerowanie *Acyrtosiphon pisum*” (zał. 4, pkt. IIF2). Celem tego projektu było poznanie zarówno czasokresu generowania molekuł sygnałowych jak i zależnego od czasu aspektu indukcji odpowiedzi obronnych *Pisum sativum* na *A. pisum*. W ramach projektu współuczestniczyłam w oznaczaniu wolnego kwasu salicylowego (SA) i jego glukozydu (SAG). Wyniki badań zostały przedstawione w oryginalnej pracy pt.: „Differential induction of *Pisum sativum* defense signaling molecules in response to pea aphid infestation” opublikowanej w czasopiśmie Plant Science w 2014 roku, której byłam współautorem (zał. 4, praca: IIA4). Następnie, mając na uwadze znaczenie mszycy grochowej jako ważnego indykatora zmian środowiskowych, współuczestniczyłam w badaniach dotyczących wpływu czynnika abiotycznego (ołowiu) i generowanych przez ołów cząsteczek sygnałowych w odpowiedzi obronnej grochu jadalnego na żerowanie *A. pisum*. Wyniki badań otrzymane w ramach tego tematu były prezentowane na konferencjach międzynarodowych i zamieszczone w oryginalnej pracy pt.: „The influence of lead on generation of signalling molecules and accumulation of flavonoids in pea seedlings in response to pea aphid infestation” opublikowanej w czasopiśmie Molecules (zał. 4, praca: IIA1). Ponadto w ramach współpracy

z prof. dr hab. Iwoną Morkunas byłam włączona w badania dotyczące współzależności pomiędzy poziomem sacharydów a generowaniem cząsteczek sygnałowych w łubinie żółtym (*Lupinus luteus* L.cv. Juno) infekowanym hemibiotroficznym grzybem *Fusarium oxysporum* f.sp. *lupini* (zał. 4, pkt.IIF4). Moim zadaniem w powyższych badaniach było oznaczenie wolnego kwasu salicylowego (SA) i jego glukozydu (SAG). Efektem tych badań były doniesienia konferencyjne jak i planowany udział w przygotowanym przez prof. dr hab. Iwonę Morkunas, międzynarodowym projekcie badawczym złożonym do NCN w ramach programu Harmonia.

Kolejny z nurtów mojej pracy badawczej dotyczył mechanizmu toksyczności metali ciężkich oraz złożoność reakcji roślin na ich podwyższone stężenia w podłożu, w szczególności u gatunków i odmian roślin stosowanych lub wykazujących duży potencjał do zastosowania w fitoremediacji. Od roku 2008 uczestniczę w badaniach realizowanych we współpracy z Katedrą Fizjologii Roślin i Katedrą Hodowli Lasu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz - w ostatnich latach - z Zakładem Biochemii i Zakładem Botaniki Ogólnej Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza. W ramach tej tematyki uczestniczyłam w dwóch projektach badawczych (jednym ukończonym – zał. 4, pkt. IIF7 i jednym realizowanym obecnie – zał. 4, pkt. IIF1), obejmujących badania nad potencjałem fitoremediacyjnym rodzimych gatunków drzewiastych w ujęciu ich przeżywalności oraz zdolności akumulacyjnych w uprawie na podłożu ekstremalnie zanieczyszczonym metalami ciężkimi (Cu, Zn i Pb) i metaloidami (As). Głównym celem podjętych przeze mnie badań było określenie roli kwasu salicylowego w odpowiedzi tych roślin na stres wywołany toksycznymi pierwiastkami, ze szczególnym uwzględnieniem interakcji występujących między metalami ciężkimi modyfikującymi znacznie ich toksyczność podczas jednoczesnego występowania w podłożu. Ponadto, podjęłam próbę określenia znaczenia SA na tle innych produktów metabolizmu pierwotnego i wtórnego uczestniczących w odpowiedzi obronnej roślin na stres wywołany przez metale ciężkie i metaloidy. Prace oryginalne dokumentujące moją działalność w tej tematyce przedkładam jako osiągnięcie naukowe będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego (zał. 4, prace: IB1, IB2, IB3, IB4). Ponadto, w ramach projektu zakończonego w roku 2010, uczestniczyłam w adaptacji metodyki profilowania niskocząsteczkowych kwasów organicznych z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie o odwróconych fazach. Metodyka ta znalazła szczególne zastosowanie w badaniach ryzosfery roślin stosowanych w fitoremediacji, mających na celu określenie profilu eksudatów wydzielanych przez roślinę do podłoża w celu ograniczenia mobilności pierwiastków toksycznych i jednoczesnego zwiększenia przyswajalności składników mineralnych. Uczestniczyłam również w pracach dotyczących wpływu stosunku molowego jonów wapnia i magnezu w pożywce oraz dodatku kompostu po uprawie pieczarki na biodostępność i akumulację metali ciężkich i - w rezultacie - na ich fitotoksyczność. W badaniach tych, jako miarę poziomu indukcji odpowiedzi fizjologicznej

wierzby wiciowej na stres przyjęto m.in. zawartość kwasu salicylowego i aktywność fotosyntezy (zał. 4, prace: IIA3, IIA6, IIA7, IIA10, IIA17, IIB5).

W latach 2009-2012, jako pomysłodawca i kierownik projektu badawczego własnego, realizowałam prace nad przydatnością grzybów białej zgnilizny drewna do remediacji gleb i ścieków zanieczyszczonych metalami ciężkimi i związkami organicznymi (w szczególności z grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych - WWA) (zał. 4, pkt. IIIF3). Podjęte badania realizowałam przy wsparciu merytorycznym Pana prof. dra hab. Marka Siwulskiego z Katedry Warzywnictwa oraz we współpracy z Katedrą Fizyki rodzimej Uczelni i Zakładem Fizyki Medycznej Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Uzyskane wyniki dowiodły jednoznacznie wysokiej przydatności przedstawicieli tej grupy organizmów do akumulacji metali ciężkich z zanieczyszczonego podłoża oraz wskazały na unikalną zdolność ich grzybni do pozakomórkowej degradacji ksenobiotyków opartej na reakcjach katalizowanych przez enzymy wydzielane do podłoża. Ponadto, w wyniku przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że podobnie jak w przypadku fitoremediacji, istotnym problemem wpływającym na wydajność mykoremediacji jest występowanie zanieczyszczenia mieszanego, a w szczególności współwystępowania jonów metali ciężkich istotnie wpływających na aktywność enzymów lignocelulozowych. Uzyskane wyniki przedstawiono częściowo w pracy magisterskiej realizowanej pod moją opieką (zał. 4, pkt. IID1) oraz opublikowano w formie prac oryginalnych (zał. 4, prace: IB6, IIA8, IIA12, IIA18, IIB4).

Jestem współautorem trzech rozdziałów w monografiach anglojęzycznych opublikowanych w latach 2012-2015 przez wydawnictwo Springer, których tematyka odzwierciedla realizowane przeze mnie prace badawcze. W szczególności, pozycje te stanowią przegląd najnowszych doniesień literaturowych dotyczących roli kwasu salicylowego w stresie oksydacyjnym wywołanym przez czynniki abiotyczne (zał. 4, praca: IIB2, IIB3), jak również metod biomonitoringu i remediacji zanieczyszczeń z grupy WWA (zał. 4, praca: IIB1). Jestem współautorem licznych prac konferencyjnych prezentowanych w formie wystąpień (zał. 4, prace: IIH1-IIH7) i plakatów (zał. 4, prace: IIB1-IIIB30) na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Współpracując z redakcjami czasopism o zasięgu międzynarodowym wykonałam szereg recenzji manuskryptów publikacji, w tym rozjemczych, w tematyce zbieżnej do realizowanych przeze mnie badań z pogranicza fizjologii roślin, biochemii i ochrony środowiska (zał. 4, pkt. IIII). Na zlecenie NCN, wykonałam 4 recenzje wniosków o finansowanie projektów badawczych w konkursach Opus i Preludium (zał. 4, pkt. IIIH).

W ramach działalności dydaktycznej, od początku mojej pracy zawodowej prowadzę zajęcia z przedmiotów chemicznych oraz analizy instrumentalnej dla studentów większości wydziałów rodzimej Uczelni (zał. 4, pkt. IIIC1). W latach 2009 i 2011 byłam opiekunem praktyk

dla studentów kierunku Ochrona Środowiska realizowanych w Katedrze Chemii. Od wielu lat aktywnie uczestniczę w programach i inicjatywach mających na celu popularyzację nauki i promocję Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu wśród uczniów szkół podstawowych i ponadpodstawowych, jak np.: Noc Naukowców, Poznański Festiwal Nauki i Sztuki, Uniwersytet Młodego Odkrywcy, lekcje akademickie dla gimnazjalistów i licealistów oraz warsztaty laboratoryjne dla najmłodszych (zał. 4, pkt. IIIA1-III A3, IIC2, IIC3). Ponadto, od bieżącego roku jestem opiekunem studenckiego Koła Naukowego Miłośników Chemii Stosowanej działającego przy Wydziale Technologii Drewna UPP.

W latach 2009-2010 byłam członkiem Rady Katedry Chemii, natomiast od 2015 roku zajmuję się planowaniem zajęć dydaktycznych i sprawozdawczością godzin zrealizowanych przez jej pracowników. Pełnię również funkcję członka Uczelnianej Komisji Wyborczej Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu w kadencji 2015-2019. Ponadto w roku 2015 byłam członkiem zespołu powołanego do opracowania propozycji zmian w planach i programie studiów II stopnia realizowanych na Wydziale Technologii Drewna (zał. 4, pkt. IIIG2, IIJ4).

Szczegółowy wykaz osiągnięć naukowo-dydaktycznych i organizacyjnych przedstawiłam w załączniku nr 4.

6. ZESTAWIENIE DOROBKU PUBLIKACYJNEGO

Osiągnięcie	Liczba	Σ IF *	Σ pkt. MNiSW *
1. Artykuły oryginalne			
a) wyróżnione w Journal Citation Report (lista A)			
<i>Acta Biologica Cracoviensia, Botanica</i>	1	0,586	13
<i>Acta Biologica Hungarica</i>	1	0,504	20
<i>Acta Physiologiae Plantarum</i>	3	4,472	75
<i>Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus</i>	2	1,239	40
<i>Applied Magnetic Resonance</i>	1	0,820	13
<i>Archives of Environmental Protection</i>	2	1,152	28
<i>Central European Journal of Biology</i>	1	0,633	20
<i>Ecotoxicology and Environmental Safety</i>	1	2,294	32
<i>Fresenius Environmental Bulletin</i>	5	3,185	71
<i>International Journal of Phytoremediation</i>	1	1,770	25
<i>Journal of Hazardous Materials</i>	1	3,925	45
<i>Journal of Environmental Science, Part A</i>	1	1,252	20
<i>Journal of Plant Physiology</i>	2	6,242	70
<i>Molecules</i>	1	2,861	30
<i>Photosynthetica</i>	1	0,862	25
<i>Plant Journal</i>	1**	6,969	24
<i>Plant Science</i>	1	3,607	35
<i>Planta</i>	1	3,263	40
Łącznie:	27	45,636	626
- w tym wykorzystane w rozprawie habilitacyjnej	6	13,424	175
b) w recenzowanych czasopismach krajowych (lista B)			
<i>Ars Separatoria Acta</i>	1	-	4
<i>Electronic Journal of Polish Agricultural Universities</i>	1	-	4
<i>Folia Horticulturae</i>	1	-	14
Łącznie:	3	-	22
Łącznie artykułów oryginalnych {1}:	30	45,636	648
2. Doniesienia konferencyjne			
a) prelekcje	7	-	-
b) plakaty	30	-	-
w tym:			
- streszczenia w materiałach konferencyjnych	33	-	-
- opracowania pełnotekstowe w materiałach konferencyjnych i pozjazdowych suplementach czasopism	4	-	-
w tym z konferencji:			
- krajowych (w j. polskim)	22	-	-
- międzynarodowych (w j. angielskim)	15	-	-
Łącznie doniesień konferencyjnych {2}:	37	-	-
3. Rozdziały w książkach {3}	3	-	14
Łącznie {1+2+3}:	70	45,636	662
- w tym wykorzystane w rozprawie habilitacyjnej	6	13,424	175

* zgodnie z rokiem opublikowania

** praca opublikowana przed uzyskaniem tytułu dra

7. BIBLIOMETRYCZNE PODSUMOWANIE DOROBKU

Wskaźnik bibliometryczny	Wartość
<i>Liczba oryginalnych publikacji naukowych według bazy Web of Science (WoS) – lista A</i>	27
<i>Sumaryczny impact factor (IF) publikacji naukowych według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania</i>	45,636
<i>Sumaryczna punktacja MNiSW wszystkich opublikowanych prac zgodnie z rokiem opublikowania</i>	662
<i>Liczba cytowań publikacji (bez autocytowań) według bazy Web of Science (WoS)</i>	158
<i>Indeks Hirscha publikacji według bazy Web of Science (WoS)</i>	8

