AUTOREFERAT

prezentujący dorobek i osiągnięcie naukowe

dr Zuzanna Magdziak

Katedra Chemii

Wydział Technologii Drewna

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poznań 2018

1. DANE PERSONALNE

Imię i nazwisko
Zuzanna Magdziak

Miejsce zatrudnienia
Katedra Chemii
Wydział Technologii Drewna
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań

2. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE

2007 r. - dyplom magistra chemii, specjalizacja: chemia ogólna i analityczna
Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Tytuł pracy magisterskiej:
„Oznaczanie amin drugorzędowych w wodach powierzchniowych oraz opracowanie nowej metodyki oznaczania amin w środowisku"

2011 r. - stopień doktora nauk leśnych w zakresie drzewnictwa
Wydział Technologii Drewna, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Tytuł rozprawy doktorskiej:
„Rola wybranych kwasów organicznych oraz makroelementów obecnych w ryzosferze w akumulacji metali ciężkich przez wierzbę wiciową (*Salix viminalis* L.)"

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU

- 2007-2011 r. – **uczestnik Studium Doktoranckiego**, Wydział Technologii Drewna, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
- 2011 r. – **adiunkt**, Katedra Chemii, Wydział Technologii Drewna, 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.:

„Kwasy organiczne w ryzosferze, organach roślin drzewiastych oraz owocnikach grzybów, jako odpowiedź na obecność pierwiastków śladowych w podłożu"

b) Przedłożone osiągnięcie naukowe udokumentowane jest cyklem 5 publikacji naukowych (w tym 3 prace, których jestem pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym) o łącznej sumie punktów MNiSW **120** oraz sumarycznym IF wg bazy Journal Citation Reports (JCR) **8,518** (zgodnie z rokiem opublikowania):

1. **Magdziak Z.**, Mleczek M., Gąsecka M., Drzewiecka K., Kaczmarek Z., Siwulski M., Goliński P. 2016 *Agaricus bisporus* compost improves the potential of *Salix purpurea* × *viminalis* hybrid for copper accumulation. International Journal of Phytoremediation 18(8):768-776. DOI: 10.1080/15226514.2015.1131238

   IF_{2016} = 1,770; 25 pkt. MNiSW

   Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu doświadczenia, przygotowaniu roślin do doświadczenia hydroponicznego, zlikwidowaniu doświadczenia i zabezpieczeniu zebranego materiału do analiz, wykonaniu

analiz dotyczących profilu jak i ilości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, których wyniki zostały zamieszczone w ww. pracy, przygotowaniu całości tekstu pracy, wprowadzeniu poprawek po recenzji i opracowaniu odpowiedzi na recenzje. Mój udział procentowy szacuję na 65%. (autor korespondencyjny)

2. Goliński P., Mleczek M., **Magdziak Z.**, Gąsecka M., Borowiak K., Dąbrowski J., Kaczmarek Z., Rutkowski P. 2015. Efficiency of Zn Phytoextraction, Biomass Yield and Formation of Low-Molecular-Weight Organic Acids in *S ×rubens* - a Hydroponic Experiment. Chemistry and Ecology 31(4):345-364. DOI: 10.1080/02757540.2014.993976

IF_{2015} = 1,047; 20 pkt. MNiSW

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu doświadczenia, przygotowaniu roślin do doświadczenia hydroponicznego, zlikwidowaniu doświadczenia i zabezpieczeniu zebranego materiału do analiz, wykonaniu analiz dotyczących profilu jak i ilości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, których wyniki zostały zamieszczone w ww. pracy, przygotowaniu istotnej części tekstu pracy, wprowadzeniu poprawek po recenzji i opracowaniu części odpowiedzi na recenzje. Mój udział procentowy szacuję na 55%.

3. **Magdziak Z.**, Mleczek M., Rutkowski P., Goliński P. 2017. Diversity of low-molecular weight organic acids synthesized by *Salix* growing in soil characterized by different Cu, Pb and Zn concentration. Acta Physiologiae Plantarum 39(6):137. DOI: 10.1007/s11738-017-2434-5

IF_{2017} = 1,563; 25 pkt. MNiSW

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: pobraniu materiału badawczego z dwóch oddalonych od siebie o 161 km powierzchni doświadczalnych, zabezpieczeniu i przetransportowaniu materiału badawczego do laboratorium, wykonaniu analiz dotyczących profilu jak i ilości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej oraz wykonaniu analiz statystycznych, których wyniki zostały zamieszczone w ww. pracy, przygotowaniu całości tekstu pracy,

wprowadzeniu poprawek po recenzji i opracowaniu odpowiedzi na recenzje. Mój udział procentowy szacuję na 70%. (autor korespondencyjny)

4. Mleczek M., **Magdziak Z.**, Gąsecka M., Niedzielski P., Kalač P., Siwulski M., Rzymski P., Zalicka S., Sobieralski K. 2016. Content of selected elements and low-molecular-weight organic acids in fruiting bodies of edible mushroom *Boletus badius* (Fr.) Fr. from unpolluted and polluted areas. Environmental Science and Pollution Research 23(20):20609-20618. DOI: 10.1007/s11356-016-7222-z

   IF_{2016} = 2,76; 30 pkt. MNiSW

   Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz dostarczonych owocników grzybów, oznaczeniu profilu jak i ilości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, których wyniki zostały zamieszczone w ww. pracy, przygotowaniu istotnej części tekstu pracy, wprowadzeniu poprawek po recenzji i opracowaniu części odpowiedzi na recenzje. Mój udział procentowy szacuję na 55%.

5. **Magdziak Z.**, Mleczek M., Siwulski M. 2017. Characteristics of organic acid profiles in 16 species of wild growing edible mushrooms. Journal of Environmental Science and Health Part B 52(10):784-789. DOI: 10.1080/03601234.2017.1356676

   IF_{2017} = 1,31; 20 pkt. MNiSW

   Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz dostarczonych owocników grzybów, oznaczeniu profilu jak i ilości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, wykonaniu analizy statystycznej otrzymanych wyników, które następnie przedstawione zostały w ww. pracy, przygotowaniu całości tekstu pracy, wprowadzeniu poprawek po recenzji i opracowaniu odpowiedzi na recenzje. Mój udział procentowy szacuję na 80%. (autor korespondencyjny)

Oświadczenia współautorów ww. prac wraz z określeniem ich indywidualnego udziału wykazano w załączniku nr 6. Żadna z przedstawionych prac nie była częścią monotematycznego cyklu prac w innym postępowaniu habilitacyjnym.

c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników

Rośliny wyższe wytworzyły mechanizmy transportu i akumulacji pierwiastków niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu (np. miedź (Cu), żelazo (Fe), mangan (Mn), nikiel (Ni), cynk (Zn)). Jednakże, przez komórki roślin pobierane są również metale ciężkie/metaloidy (m.in. antymon (Sb), arsen (As), kadm (Cd) czy ołów (Pb)), których obecność w środowisku nawet w niewielkich ilościach może wiązać się z niekorzystnym wpływem na wzrost i rozwój roślin. Pobieranie pierwiastków, rozpoczyna się poza komórkami korzeni, czyli na poziomie ryzosfery, różniącej się od pozostałej części gleby właściwościami fizyko-chemicznymi. Ryzosfera charakteryzuje się większą ilością bakterii i grzybów, składem materii organicznej oraz odczynem, głównie ze względu na poddawanie jej nieustannemu oraz intensywnemu działaniu wydzielin korzeni (Hinsinger i wsp. 2005). Jej charakterystyczny skład i właściwości bezpośrednio wpływają na rozpuszczalność i pobieranie pierwiastków, poprzez zmiany odczynu gleby, wytrącanie osadów, reakcje tworzenia związków kompleksowych (chelatacja) oraz procesy utlenienia i redukcji (Adeleke i wsp. 2017). Do najczęściej wymienianych związków występujących w ryzosferze, w ilościach znacząco wyższych niż w pozostałej części gleby, należą kwasy organiczne o niskiej masie cząsteczkowej (ang. Low Molecular Weight Organic acids – LMWOAs), flawonoidy, cukry, aminokwasy czy też związki fenolowe. Szczególną uwagę zwraca się na wymienione powyżej kwasy organiczne, których tworzenie i uwalnianie do ryzosfery związane jest z formowaniem przez nie struktury i składu mikroflory bakteryjnej (Lee i wsp. 1977) oraz zwiększaniem biodostępności między innymi pierwiastków odżywczych, zwłaszcza tych trudno dostępnych, jak fosfor (P), magnez (Mg), potas (K) czy żelazo (Fe) (Adeleke i wsp. 2017).

Zwiększone stężenie kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej wydzielanych do ryzosfery, przypisywane jest działaniu negatywnych czynników środowiska na komórki korzeni (Lee i wsp. 1977), przede wszystkim podwyższonego stężenia pierwiastków śladowych, w tym - w szczególności - metali ciężkich/metaloidów. Kwasy organiczne posiadają potencjał do zwiększania mobilności metali w profilach glebowych poprzez zmniejszenie odczynu gleby, tworzenie kompleksów z obecnymi w podłożu pierwiastkami (Renella i wsp. 2004), obniżenie adsorpcji na cząsteczkach gleby z ostatecznym zwiększeniem ich biodostępności (Liao i Xie 2004). W literaturze powyższe zależności prezentowane są jako jeden z pierwszych mechanizmów detoksykacji metali poza

ścianą komórkową i komórkami korzeni roślin. Rola kwasów w ryzosferze jest szczególnie widoczna w przypadku gatunków roślin charakteryzujących się istotną efektywnością fitoekstrakcji pierwiastków śladowych, gdyż poziom stężeń kwasów w ryzosferze jest zdecydowanie wyższy w porównaniu z roślinami wykorzystujących strategię wykluczania (Ash i wsp. 2016).

Pomimo wszystkich pozytywnych cech, jakie przypisuje się kwasom organicznym o niskiej masie cząsteczkowej wydzielanym do ryzosfery, wciąż brakuje informacji dotyczących ich profilu i zawartości, w odniesieniu do czynników abiotycznych (m.in. obecność pierwiastków śladowych, dodatku do podłoża odpadów zdolnych do zwiększania efektywności fitoekstrakcji, plonu biomasy czy też tolerancji na obecność metali ciężkich). Ponadto wszelkie badania dotyczące tej grupy związków ograniczają się zazwyczaj do roślin uprawnych i hiperakumulatorów (Valentinuzzi i wsp. 2016; Adeleke i wsp. 2017), a dla roślin drzewiastych są nadal fragmentaryczne, by uzyskać odpowiedzi na pytania: czy ich ilość jest zależna od warunków środowiskowych m.in. stężenia i charakteru chemicznego metalu, czy uwolnienie kwasów organicznych przez korzenie wpływa na mobilizację i pobieranie przez rośliny metali ciężkich z ryzosfery oraz czy ich ilość może wskazywać na uruchamianie przez roślinę mechanizmu obronnego na pojawiający się stres.

Powyżej opisane istotne ograniczenia w dostępnej literaturze światowej, uzupełnia pierwsza z prac wchodząca w skład mojego monotematycznego cyklu publikacji pt. **„*Agaricus bisporus* compost improves the potential of *Salix purpurea* × *viminalis* hybrid for copper accumulation”**. Obiektem badań w prezentowanej pracy była hybryda wierzby purpurowej i wiciowej - *Salix purpurea* × *viminalis* (*S. purpurea* × *viminalis*), charakteryzująca się zarówno znaczną dynamiką wzrostu i produkcji biomasy, jak również relatywnie wysoką tolerancją na działanie pierwiastków śladowych w porównaniu z innymi roślinami drzewiastymi, potwierdzone zarówno w badaniach modelowych, jak i polowych.

Celem prezentowanej mojej pracy było określenie:

- profilu i stężenia kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze *S. purpurea* × *viminalis*,
- wpływu Cu oraz podłoża po uprawie pieczarki *Agaricus bisporus* (*A. bisporus*) na profil oraz zawartość oznaczanych kwasów organicznych,
- roli kwasów w ryzosferze podczas ekspozycji na Cu oraz podłoże po uprawie pieczarki *A. bisporus*.

Uzyskane przeze mnie wyniki wskazały na istotną zmienność profilu, jak i całkowitej zawartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze *S. purpurea* × *viminalis*. W ryzosferze *S. purpurea* × *viminalis* zawierającej w układach tylko piasek kwarcowy (układ kontrolny) oraz piasek wraz z dodatkiem Cu, stwierdziłam obecność wszystkich 10 analizowanych kwasów (bursztynowy, cytrynowy, fumarowy, jabłkowy, maleinowy, malonowy, mlekowy, mrówkowy, octowy oraz szczawiowy). Dodatek **wzrastającego stężenia Cu** dla tych układów, **skutkował zwiększeniem ilości wydzielanych kwasów** ($p<0,001$) (od 32,5±0,09 μM kg^{-1} s.m. dla kontroli, do 192,82±8,91 μM kg^{-1} s.m. dla 3 mM dodatku Cu), a **dominującymi były kwasy: cytrynowy, malonowy, mrówkowy, octowy oraz szczawiowy** (Tabela 1). Pozostałe kwasy oznaczyłam na istotnie niższym poziomie stężeń. Dla roślin rosnących w układach zawierających dodatek podłoża po uprawie pieczarki *A. bisporus* (10% i 30%) wykazałam, że suma stężeń oznaczonych kwasów była wyższa względem układu kontrolnego (bez dodatku podłoża oraz Cu), jednakże spośród 10 analizowanych kwasów oznaczyłam wyłącznie 6 dla układów z 10% dodatkiem (bursztynowy, cytrynowy, mlekowy, mrówkowy, octowy oraz szczawiowy) oraz 7 z 30% dodatkiem podłoża (bursztynowy, cytrynowy, malonowy, mlekowy, mrówkowy, octowy oraz szczawiowy). Najwyższe stężenia w układach z 10% dodatkiem podłoża oznaczyłam dla kwasów: cytrynowego, mrówkowego, octowego i szczawiowego, a dla układu z 30% dodatkiem *A. bisporus* również i kwasu malonowego (Tabela 1).

Tabela 1. Stężenie kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze *Salix purpurea* × *viminalis* [μmol kg^{-1} s.m.] zależnie od wzrastającego stężenia Cu w pożywce oraz procentowego dodatku podłoża po uprawie *Agaricus bisporus*

dodatek podłoża [%]	stężenie Cu [mM]			
	0	1	2	3
	kwas cytrynowy			
kontrola	0,259^{efg}±0,019	0,350^{efg}±0,038	1,633^{d}±0,012	pLD^{g}
10	1,089^{de}±0,156	0,767^{efg}±0,055	0,118^{fg}±0,006	0,359^{efg}±0,009
30	7,843^{a}±0,718	0,934^{def}±0,027	3,184^{c}±0,335	4,914^{b}±0,091
	kwas malonowy			
kontrola	0,212^{c}±0,027	0,186^{c}±0,039	0,120^{c}±0,035	0,568^{c}±0,085
10	pLD^{c}	pLD^{c}	pLD^{c}	pLD^{c}
30	7,156^{a}±0,998	1,911^{b}±0,358	6,378^{a}±0,290	6,938^{a}±0,305
	kwas mrówkowy			
kontrola	0,203^{f}±0,0400	1,360^{ef}±0,265	0,968^{f}±0,099	1,533^{ef}±0,208
10	6,739^{d}±0,556	2,274^{ef}±0,264	0,317^{f}±0,021	pLD^{f}
30	49,901^{a}±3,570	5,294^{de}±1,094	19,178^{c}±0,610	31,779^{b}±0,624
	kwas octowy			
kontrola	2,012^{h}±0,084	12,959^{cde}±1,022	5,397^{gh}±3,448	20,655^{b}±0,776
10	11,363^{def}±0,632	8,766^{efg}±0,182	1,579^{h}±0,072	6,583^{fgh}±1,436
30	15,607^{bcd}±3,523	4,402^{gh}±0,918	17,178^{bc}±0,188	24,396^{a}±0,343
	kwas szczawiowy			
kontrola	29,480^{cd}±0,057	63,580^{b}±1,936	58,131^{b}±0,633	163,489^{a}±8,066
10	36,357^{c}±4,207	8,502^{e}±0,1697	0,674^{e}±0,007	2,271^{e}±0,159
30	156,183^{a}±0,510	5,236^{e}±0,0631	21,546^{d}±0,205	32,465^{c}±0,832
	suma 10 analizowanych kwasów			
kontrola	32,547^{g}±0,088	79,515^{d}±2,991	67,487^{e}±2,870	192,812^{b}±8,906
10	55,548^{f}±3,847	20,318^{h}±0,432	2,687^{i}±0,060	9,215^{hi}±1,464
30	236,949^{a}±2,783	17,777^{h}±1,543	67,465^{e}±0,819	100,492^{c}±1,641

Średnie wartości (n = 3) ± odchylenie standardowe; identyczne indeksy górne (a, b, c...) nie oznaczają żadnej istotnej (P<0,001) różnicy między wartościami średnimi w kolumnie zgodnie z testem HDS Tukeya (MANOVA)
pLD – poniżej limitu detekcji

Przedstawione przeze mnie **wyniki jednoznacznie wskazały na istotny spadek zwartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze *S. purpurea* × *viminalis* badanych układów zawierających jednocześnie dodatek podłoża po uprawie *A. bisporus* oraz jonów Cu**, zwłaszcza dla układów zawierających 10% dodatek podłoża (od 55,55±3,85 μM kg^{-1} s.m., do 9,21±1,46 μM kg^{-1} s.m. dla 3 mM dodatku Cu). Stwierdzone istotne zmiany w zawartości kwasów w ryzosferze *S. purpurea* × *viminalis* mogły obejmować aktywną reakcję tworzenia trwałych związków kompleksowych (kwas-Cu) oraz unieruchamianie ich poprzez proces adsorpcji na powierzchni cząsteczek (ziaren) piasku, podłoża, jak i korzeni. Obserwowaną zależność można również potwierdzać istotnie niższą

akumulacją Cu w organach *S. purpurea × viminalis*.

Rola kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, jako eksudatów korzeniowych, nie ogranicza się do ryzosfery. Coraz więcej doniesień literaturowych wskazuje, że całkowita zawartość kwasów organicznych w organach roślin jest wysoka m.in. ze względu na fakt, że biorą one istotny udział - jako produkty pośrednie - w procesie fotosyntezy. Wchodzą one również w skład kluczowych biomolekuł wykorzystywanych przez roślinę w detoksykacji metali ciężkich/metaloidów (Bao i wsp. 2011; Adeleke i wsp. 2017), jako naturalne chelatory buforujące ich negatywne działanie. Tworzenie, akumulacja i transport kwasów organicznych w roślinie podlega znaczącym zmianom, zależnie od gatunku i wieku rośliny oraz rodzaju czynnika wywołującego stres (susza, zasolenie, działanie metali) (Mucha i wsp. 2010; Xie i wsp. 2013; Xin i wsp. 2015). Kwasy organiczne o niskiej masie cząsteczkowej są postrzegane jako jeden z mechanizów obronnych w celu skutecznego transportu i zmniejszenia toksyczności wolnych jonów metali w roślinach, jednakże badania prezentowane w literaturze światowej ograniczają się najczęściej do: (i) ryzosfery, (ii) ryzosfery i korzenia lub (iii) tylko do łodygi i liści (Haoliang i wsp. 2007; Xie i wsp. 2013; Bergqvist i wsp. 2014; Dresler i wsp. 2014 a,b). Na podstawie dostępnych źródeł literaturowych, prawdopodobnie brak badań łączących zarówno profil, jak i ilość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, począwszy od ryzosfery, przez korzeń i liście roślin drzewiastych/krzewów, których rola jest nadrzędna względem roślin niższych. Z tego względu wykonałam szereg doświadczeń hydroponicznych oraz środowiskowych dla rodzimych roślin drzewiastych i krzewów, wykorzystywanych zarówno dla zagospodarowania nieużytków, jak i dla zwiększenia udziału tych gatunków na terenach o podwyższonej zawartości szczególnie metali ciężkich w glebie. Celem wykonanych przeze mnie badań było określenie:

- profilu i stężenia kwasów organicznych w ryzosferze, korzeniach i liściach wybranych roślin drzewiastych,
- roli kwasów podczas ekspozycji względem wybranych metali,
- stężenia analizowanych kwasów w obecności wybranych metali,
- poziomu istotności tworzenia i wydzielania wybranych kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej pod wpływem stresu wywołanego obecnością metali ciężkich.

Druga praca wchodząca w skład mojego cyklu posiada tytuł „**Efficiency of Zn Phytoextraction, Biomass Yield and Formation of Low-Molecular-Weight Organic Acids in *S ×rubens* – a Hydroponic Experiment**”, i dotyczy zagadnienia tworzenia kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej przez *S ×rubens* pod wpływem wzrastającego stężenia Zn. Klon *S ×rubens*, na etapie prowadzonych wcześniej badań na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, charakteryzował się wysoką efektywnością fitoekstrakcji Zn, stanowiąc tym samym interesujący przedmiot badań w aspekcie kwasów organicznych. Celem moich badań było określenie profilu i stężenia kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej wydzielanych do ryzosfery, a dalej tworzenia ich w korzeniu oraz liściach. Stwierdziłam obecność w ryzosferze wszystkich dziesięciu analizowanych kwasów (bursztynowy, cytrynowy, fumarowy, jabłkowy, maleinowy, malonowy, mlekowy, mrówkowy, octowy oraz szczawiowy). Dla roślin kontrolnych (pożywka bez dodatku Zn), suma wszystkich kwasów wynosiła ~0,93 μmol kg^{-1} suchej masy piasku (s.m.), podczas gdy dla roślin poddanych działaniu Zn w stężeniu 5,0 mM, ilość ta wzrosła do ~4,9 μmol kg^{-1} s.m. **Głównymi wydzielonymi do ryzosfery kwasami były** (μmol kg^{-1} s.m.): **mlekowy** (≤4,60), **fumarowy** (≤0,2), **jabłkowy** (≤0,17) **oraz octowy** (≤0,18). Ponadto, w eksudatach korzeniowych oznaczyłam niewielkie ilości kwasu cytrynowego oraz szczawiowego. Stężenie pozostałych kwasów (mrówkowy, malonowy, cytrynowy oraz bursztynowy) oznaczyłam wyłącznie dla wybranych układów przedstawionych w Tabeli 2.

W korzeniach badanego klonu *S ×rubens*, stwierdziłam również obecność wszystkich dziesięciu badanych kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej. **Podobnie jak w ryzosferze, stężenie kwasów w korzeniach było wyższe u roślin poddanych działaniu Zn** (~1,34 μmol kg^{-1} świeżej masy (ś.m.) dla kontroli, ~5,57 μmol kg^{-1} ś.m. dla roślin poddanych 2,5 mM roztworem Zn) (Tabela 2). **Dominującymi kwasami oznaczonymi w korzeniach były** (μmol kg^{-1} ś.m.): **jabłkowy** (≤1,22), **malonowy** (≤1,32) **oraz cytrynowy** (≤1,60). Z kolei kwasy: szczawiowy, mrówkowy, maleinowy oraz fumarowy oznaczyłam na zdecydowanie niższym poziomie, a stężenia kwasów: bursztynowego, mlekowego i octowego powyżej ich poziomu detekcji stwierdziłam tylko w wybranych kombinacjach (Tabela 3). Należy podkreślić, że suma oznaczonych kwasów w korzeniach była podobna do sumy jaką oznaczono w ryzosferze.

W liściach *S ×rubens*, oznaczyłam dziewięć spośród dziesięciu analizowanych kwasów o niskiej masie cząsteczkowej (bursztynowy, cytrynowy, fumarowy, jabłkowy, maleinowy, mlekowy, mrówkowy, octowy oraz szczawiowy, podczas gdy kwas malonowy znajdował się

poniżej limitu detekcji). **Liście charakteryzowały się zdecydowanie wyższą zawartością kwasów** (µmol kg^{-1} ś.m.): **jabłkowego** (≤70,83), **bursztynowego** (≤32,67) **oraz cytrynowego** (≤13,37), a kwasy: szczawiowy (≤0,74), octowy (≤0,82), mrówkowy (≤2,42) oraz mlekowy (≤10,87) oznaczyłam na istotnie ($P<0,05$) niższym poziomie. Z kolei obecność kwasu maleinowego stwierdziłam dla układu 0, 0,1 oraz 0,2 mM Zn, a kwasu fumarowego tylko w układach 0,1 i 0,2 mM Zn (Tabela 4).

Tabela 2. Stężenie kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze *S ×rubens* [µmol kg^{-1} ś.m.] zależnie od wzrastającego stężenia Zn w pożywce

Zn [mM]	Bursztynowy	Cytrynowy	Fumarowy	Jabłkowy	Maleinowy	Malonowy
0	pLD	$0{,}0055^{ab}$±0,0078	$0{,}0296^{d}$±0,0030	$0{,}0398^{bc}$±0,02869	$0{,}0009^{a}$±0,0002	pLD
0,1	pLD	pLD	$0{,}1486^{ab}$±0,0192	$0{,}1406^{a}$±0,0219	$0{,}0009^{a}$±0,0003	pLD
0,2	$0{,}0689^{a}$±0,0052	pLD	$0{,}1174^{bc}$±0,0072	$0{,}1718^{a}$±0,0289	$0{,}0005^{a}$±0,0001	pLD
1	$0{,}0663^{a}$±0,0173	$0{,}0149^{a}$±0,0033	$0{,}2048^{a}$±0,0199	$0{,}1413^{a}$±0,0212	$0{,}0004^{a}$±0,0001	$0{,}0116^{a}$±0,0060
2,5	pLD	pLD	$0{,}1560^{ab}$±0,0475	$0{,}1144^{ab}$±0,0478	$0{,}0008^{a}$±0,0001	pLD
5	pLD	pLD	$0{,}0386^{cd}$±0,0177	pLD	$0{,}0003^{a}$±0,0004	pLD

Zn [mM]	Mlekowy	Mrówkowy	Octowy	Szczawiowy	Suma
0	$0{,}6824^{bc}$±0,0650	pLD	$0{,}1162^{b}$±0,0235	$0{,}0585^{a}$±0,0119	$0{,}9330^{bc}$±0,0608
0,1	$1{,}1977^{b}$±0,1274	pLD	$0{,}0168^{cd}$±0,0230	$0{,}0053^{b}$±0,0053	$1{,}5099^{b}$±0,1535
0,2	$0{,}2904^{c}$±0,0385	pLD	pLD	$0{,}0832^{a}$±0,0103	$0{,}7323^{bc}$±0,0477
1	$0{,}3891^{c}$±0,0578	$0{,}0565^{a}$±0,0112	$0{,}1770^{a}$±0,0145	$0{,}0158^{b}$±0,0022	$1{,}0777^{bc}$±0,1065
2,5	$0{,}2815^{c}$±0,0568	pLD	$0{,}0695^{bc}$±0,0181	pLD	$0{,}6517^{c}$±0,0860
5	$4{,}5982^{a}$±0,5404	pLD^{b}	pLD	$0{,}0580^{a}$±0,0089	$4{,}9047^{a}$±0,5568

Średnie wartości (n = 6) ± odchylenie standardowe; identyczne indeksy górne (a, b, c…) nie oznaczają żadnej istotnej (P<0,05) różnicy między wartościami średnimi w kolumnie zgodnie z testem HDS Tukeya (MANOVA)
pLD – poniżej limitu detekcji

Tabela 3. Stężenie kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w korzeniach *S ×rubens* [µmol kg^{-1} ś.m.] zależnie od wzrastającego stężenia Zn w pożywce

Zn [mM]	Bursztynowy	Cytrynowy	Fumarowy	Jabłkowy	Maleinowy	Malonowy
0	pLD	0,1887^{b}±0,0970	0,0238^{a}±0,0098	0,1841^{cd}±0,0507	0,0024^{b}±0,0010	0,5850^{b}±0,0808
0,1	pLD	0,3399^{b}±0,0320	0,0105^{a}±0,0043	0,4392^{b}±0,1082	0,0007^{b}±0,0002	pLD
0,2	pLD	0,1074^{b}±0,0117	0,0116^{a}±0,0007	pLD	0,0001^{b}±0,0000	0,5650^{b}±0,0166
1	pLD	1,6032^{a}±0,4638	0,0257^{a}±0,0117	1,2247^{a}±0,0887	0,0049^{b}±0,0008	1,3230^{a}±0,1456
2,5	3,7783^{a}±0,4799	1,3915^{a}±0,3267	0,0141^{a}±0,0052	0,2247^{c}±0,0426	0,0338^{a}±0,0090	0,2278^{bc}±0,0427
5	0,0111^{b}±0,0158	1,5796^{a}±0,1165	0,0109^{a}±0,0003	0,0159^{cd}±0,0012	0,0009^{b}±0,0001	pLD

Zn [mM]	Mlekowy	Mrówkowy	Octowy	Szczawiowy	Suma
0	0,0603^{b}±0,0158	0,0677^{c}±0,0960	0,0975^{a}±0,0136	0,0295^{a}±0,0067	1,3400^{c}±0,1841
0,1	pLD	0,4160^{b}±0,0765	0,0165^{b}±0,0163	0,0130^{b}±0,0026	1,1329^{c}±0,0287
0,2	pLD	0,7928^{a}±0,0661	pLD	0,0130^{b}±0,0035	1,4900^{c}±0,0486
1	0,2326^{a}±0,0327	0,0092^{c}±0,0016	0,0822^{a}±0,0228	0,0413^{a}±0,0070	4,5467^{b}±0,1620
2,5	0,0021^{c}±0,0001	0,0217^{c}±0,0041	pLD	0,0064^{b}±0,0015	5,5716^{a}±0,5716
5	pLD	0,0144^{c}±0,0041	pLD	0,0010^{b}±0,0003	1,6338^{c}±0,1237

Średnie wartości (n = 6) ± odchylenie standardowe; identyczne indeksy górne (a, b, c…) nie oznaczają żadnej istotnej (P<0,05) różnicy między wartościami średnimi w kolumnie zgodnie z testem HDS Tukeya (MANOVA)
pLD – poniżej limitu detekcji

Tabela 4. Stężenie kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w liściach *S ×rubens* [µmol kg^{-1} ś.m.] zależnie od wzrastającego stężenia Zn w pożywce

Zn [mM]	Bursztynowy	Cytrynowy	Fumarowy	Jabłkowy	Maleinowy	Malonowy
0	$32{,}6715^{a}$±2,2836	$10{,}6398^{ab}$±2,0431	pLD	$62{,}8834^{a}$±4,4876	$0{,}0048^{b}$±0,0008	pLD
0,1	$26{,}8368^{b}$±3,0035	$8{,}5829^{b}$±0,9265	$0{,}5690^{a}$±0,5529	$49{,}5556^{b}$±2,2680	$0{,}0224^{a}$±0,0023	pLD
0,2	$10{,}8741^{c}$±1,0179	$6{,}3549^{b}$±0,5602	$0{,}0008^{b}$±0,0001	$51{,}4363^{b}$±2,8034	$0{,}0083^{b}$±0,0085	pLD
1	$28{,}9980^{ab}$±1,4487	$7{,}7206^{b}$±0,8940	pLD	$70{,}8298^{a}$±1,9145	pLD	pLD
2,5	$3{,}7515^{d}$±0,3074	$13{,}3738^{a}$±2,4511	pLD	$68{,}3004^{a}$±2,4909	pLD	pLD
5	pLD	pLD	pLD	pLD	pLD	pLD

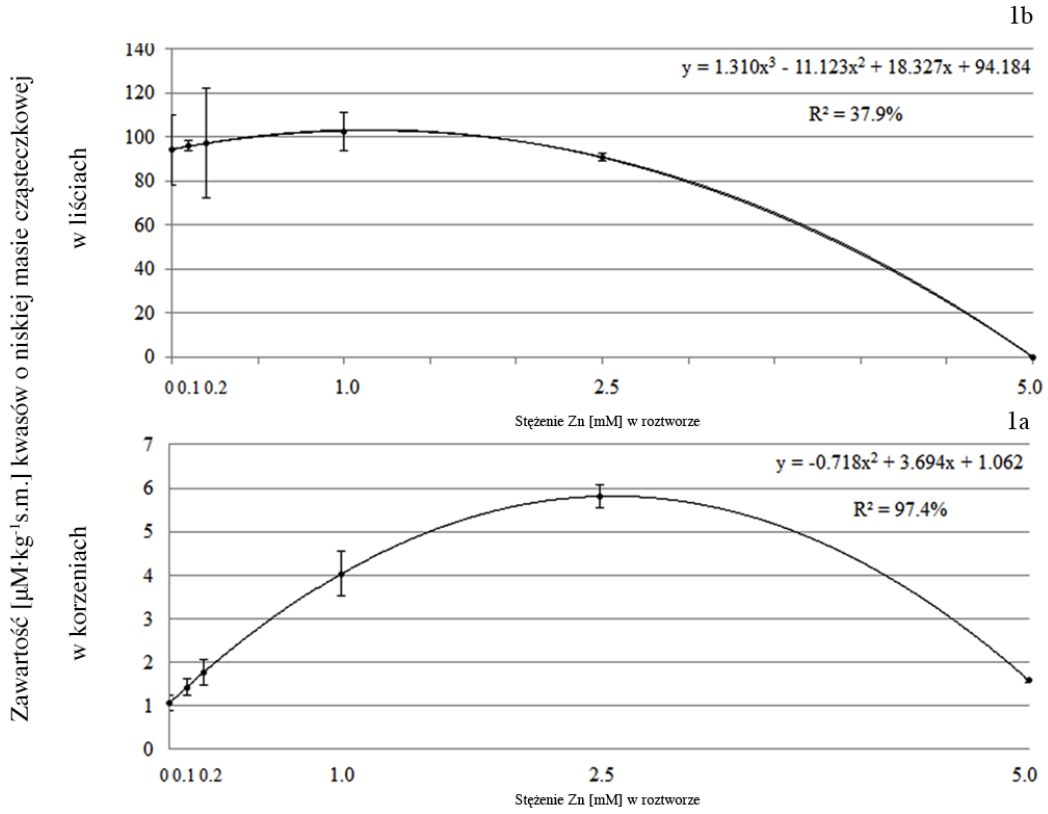
Zn [mM]	Mlekowy	Mrówkowy	Octowy	Szczawiowy	Suma
0	$0{,}3250^{b}$±0,0345	$2{,}2102^{a}$±0,2091	$0{,}4305^{b}$±0,0495	$0{,}7437^{a}$±0,1269^{a}	$109{,}9090^{a}$±7,5305
0,1	$10{,}2653^{a}$±1,4189	$1{,}6683^{a}$±0,0227	$0{,}4060^{b}$±0,0305	$0{,}2474^{c}$±0,0330^{c}	$98{,}1870^{ab}$±5,5563
0,2	$0{,}6581^{b}$±0,0600	$2{,}3320^{a}$±0,3225	$0{,}2292^{c}$±0,0300	$0{,}4664^{b}$±0,0830	$72{,}4269^{c}$±2,4331
1	$0{,}1093^{b}$±0,0164	$2{,}4159^{a}$±0,3762	$0{,}8174^{a}$±0,0395	$0{,}2218^{c}$±0,0219	$111{,}446^{a}$±21,0046
2,5	$0{,}3661^{b}$±0,0486	$1{,}7734^{a}$±0,2088	$0{,}2093^{c}$±0,0174	$0{,}4040^{bc}$±0,0234	$89{,}0118^{b}$±3,8198
5	pLD	pLD	pLD	pLD	pLD

Średnie wartości (n = 6) ± odchylenie standardowe; identyczne indeksy górne (a, b, c…) nie oznaczają żadnej istotnej (P<0,05) różnicy między wartościami średnimi w kolumnie zgodnie z testem HDS Tukeya (MANOVA)
pLD – poniżej limitu detekcji

Istotny element prezentowanej przeze mnie pracy, stanowi stwierdzona zależność pomiędzy sumą analizowanych kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze, a ich stężeniem oznaczonym w korzeniach *S ×rubens*. W układzie z najniższym dodatkiem Zn (0,1 mM), stężenie kwasów w ryzosferze było wyższe od tego, jakie stwierdziłam dla układu kontrolnego, podczas gdy w korzeniu zaobserwowałam sytuację odwrotną. Podwyższenie ilości Zn w roztworze do wartości 0,2 mM skutkowało obniżeniem stężenia kwasów w ryzosferze względem układu kontrolengo, natomiast w korzeniach wartość ta wzrosła. Tę samą zależność stwierdziłam również dla kolejnych układów wraz ze wzrostem stężenia Zn w pożywce. Wyjątek stanowił układ o stężeniu 1 mM Zn, gdzie stężenie kwasów względem układu kontrolnego było wyższe zarówno w ryzosferze, jak i w korzeniu.

Przeprowadzone przeze mnie badania wykazały ponadto, że najwyższe stężenia oznaczanych kwasów organicznych występowały w liściach *S ×rubens*, a całkowita zawartość kwasów malała względem układu kontrolnego (odwrotnie niż w przypadku ryzosfery i korzenia). Wyjątek stanowił układ, w którym Zn dodany do pożywki w ilości 1 mM w roztworze, a suma oznaczonych kwasów wyniosła 111,45 μmol kg^{-1} ś.m.

Dla otrzymanych wyników wykonałam ich graficzną prezentację, wskazującą na istotne zależności pomiędzy tworzonymi kwasami organicznymi o niskiej masie cząsteczkowej w korzeniach i liściach, a stężeniem Zn w kolejnych pożywkach (Rysunek 1).



Rysunek 1. Krzywe regresji zawartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w korzeniach i liściach (µmol kg^{-1} ś.m.) w odniesieniu do stężenia Zn w roztowrze

Wyniki moich badań **jednoznacznie pokazały, że fitoekstrakcji Zn przez organy wierzby towarzyszy istotna zmienność stężenia kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze, korzeniach oraz liściach *S ×rubens***. Klon ten był zdolny do akumulowania Zn i jednocześnie nie wykazywał żadnych istotnych zmian stanowiących efekt toksycznego działania jego jonów. Istotna, negatywna korelacja pomiędzy zawartością Zn, a stężeniem kwasów organicznych oznaczonych w organach *S ×rubens*, może wskazywać na ich udział w translokacji metalu od korzeni do liści. Im wyższy poziom akumulacji Zn w organach *S ×rubens*, tym wyższe stężenia kwasów: jabłkowego i mlekowego, które oznaczyłam w korzeniach oraz dodatkowo kwasu bursztynowego w liściach.

Uzyskane i prezentowane powyżej dane dotyczące kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze, korzeniach i liściach pod wpływem wzrastającego stężenia Zn dla wybranego klonu wierzby, stanowiły podstawę do dalszych moich badań. Opisane doświadczenie modelowe rozszerzono o doświadczenie polowe, w którym badano 9 klonów wierzby.

Podobnie jak *S ×rubens*, klony wierzby zostały wybrane na podstawie wyników uzyskanych w ramach projektu badawczego N R12 0065 10 „Uprawy odmian wierzby na

nieużytkach oraz na terenach zdegradowanych i chemicznie zanieczyszczonych, celem efektywnego pozyskania biomasy, surowca budowlanego i energetycznego oraz fitoremediacji środowiska" (kierownik projektu: prof. dr hab. Piotr Goliński).

Praca pod tytułem **„Diversity of low-molecular weight organic acids synthesized by *Salix* growing in soil characterized by different Cu, Pb and Zn concentration"**, dotyczycy badań 9 klonów wierzby: *S.* ×*smithiana* (S_1), *S.* ×*rubra* 4 (S_{30}), *S.* ×*smithiana* 2 (S_{44}), *S. purpurea* × *triandra* × *viminalis* 2 (S_{46}), *S.* ×*purpurea* 10 (S_{58}), *S. cinerea* ($S_{205/189}$), *S.* ×*smithiana* ($S_{207/191}$), *S. alba* (S_{225}) i *S. viminalis* 'PR' ($S_{305/305}$). *S.* ×*smithiana* (S_1) i *S.* ×*smithiana* ($S_{207/191}$) stanowiły oddzielne klony *Salix* różniące się płcią (*S.* ×*smithiana* (S_1) odmiana żeńska, *S.* ×*smithiana* ($S_{207/191}$) odmiana męska). Wyselekcjonowane klony zebrane zostały z dwóch powierzchni oddalonych od siebie o 161 km, charakteryzujących się istotnie zróżnicowanymi właściwościami fizyko-chemicznymi gleby. Pierwsza powierzchnia doświadczalna zlokalizowana była na terenie Nadleśnictwa Doświadczalnego Zielonka (52°33'4" N, 17°06'20" E), druga natomiast znajdowała się w okolicach miejscowości Grodziec Mały (51°40'48" N, 16°02'41" E). Powierzchnie te różniły się między sobą pod względem rodzaju podłoża (pierwsza powierzchnia - piasek, druga powierzchnia – ziemia gliniasta), wód gruntowych (pierwsza powierzchnia - poziom wód gruntowych na głębokości 11,0 m, druga powierzchnia - okresowo zalewana) oraz ilością pierwiastków śladowych, przede wszystkim stężeniem Cu, Pb i Zn.

Celem mojej pracy była ocena zróżnicowania profilu i stężenia kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej - wydzielonych do ryzosfery i tworzonych w korzeniach oraz liściach wierzb, ze względu na zróżnocowaną obecność pierwiastków śladowych w glebie oraz określenie wpływu występowania kwasów organicznych na ich akumulację.

Dominującymi kwasami w ryzosferze badanych klonów wierzby były: szczawiowy, jabłkowy, octowy, cytrynowy oraz bursztynowy (Tabela 5). Stężenie pozostałych kwasów kształtowało się na zdecydowanie niższym poziomie lub poniżej limitu detekcji. Profil oraz ilość oznaczanych kwasów o niskiej masie cząsteczkowej zależał od klonu wierzby, jak i miejsca jego wzrostu (powierzchni doświadczalnej). Wykazałam, że dla roślin rosnących na pierwszej powierzchni, suma oznaczonych kwasów organicznych w ryzosferze kształtowała się pomiędzy 2,29±0,06 i 20,82±4,25 μmol 100 g^{-1} s.m. odpowiednio dla klonu *S.* ×*smithiana* (S_1) i *S. viminalis* 'PR' ($S_{305/305}$), natomiast na drugiej powierzchni, kształtowała się od 15,28±1,40 do 73,48±6,77 μmol 100 g^{-1} s.m. dla *S. purpurea* × *triandra* × *viminalis* 2 (S_{46}) i klonu *S.* ×*smithiana* ($S_{207/191}$). **Dla drugiej powierzchni jednoznacznie wykazałam**

istotny wzrost stężenia kwasów: szczawiowego, jabłkowego, octowego oraz cytrynowego w ryzosferze badanych klonów wierzby (dla większości klonów wzrost ten był nawet ponad dziesięciokrotnie wyższy niż oznaczony w ryzosferze prób pobranych z pierwszej powierzchni). Sumaryczna zawartość kwasów w ryzosferze była zdecydowanie wyższa dla roślin pochodzących z drugiej powierzchni, cechującej się istotnie wyższym stężeniem metali względem pierwszej powierzchni.

Tabela 5. Stężenie i profil kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze badanych klonów *Salix* [µmol 100 g^{-1} s.m.] dla obu powierzchni doświadczalnych

Klon	Bursztynowy		Cytrynowy		Jabłkowy		Fumarowy		Maleinowy		Malonowy	
	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2
S_1	pLD	pLD	pLD	pLD	$2{,}23^{abB}\pm0{,}37$	$10{,}62^{bcA}\pm1{,}56$	$0{,}02^{aB}\pm0{,}00$	$1{,}97^{aA}\pm0{,}26$	pLD	$0{,}30^{b}\pm0{,}03$	pLD	pLD
S_{30}	pLD	pLD	$0{,}16^{bcA}\pm0{,}01$	$0{,}05^{cB}\pm0{,}00$	$1{,}41^{abB}\pm0{,}04$	$33{,}64^{aA}\pm4{,}41$	$0{,}02^{aA}\pm0{,}01$	$0{,}03^{cA}\pm0{,}00$	pLD	$0{,}13^{bcd}\pm0{,}01$	$0{,}52^{abcA}\pm0{,}06$	$0{,}06^{dB}\pm0{,}01$
S_{44}	pLD	pLD	$0{,}24^{aB}\pm0{,}03$	$25{,}72^{aA}\pm4{,}70$	$1{,}70^{abB}\pm0{,}24$	$12{,}82^{bA}\pm2{,}05$	pLD	pLD	pLD	pLD	$0{,}42^{cA}\pm0{,}02$	$0{,}16^{dB}\pm0{,}05$
S_{46}	pLD	pLD	$0{,}17^{abcB}\pm0{,}02$	$1{,}97^{bcA}\pm0{,}02$	$1{,}29^{bA}\pm0{,}09$	$0{,}78^{eB}\pm0{,}06$	pLD	pLD	pLD	$0{,}82^{a}\pm0{,}00$	$0{,}44^{cB}\pm0{,}03$	$8{,}60^{aA}\pm1{,}02$
S_{58}	pLD	$4{,}06^{ab}\pm0{,}30$	$0{,}21^{abcB}\pm0{,}01$	$3{,}95^{bcA}\pm0{,}03$	$1{,}63^{abB}\pm0{,}32$	$8{,}80^{bcA}\pm1{,}62$	pLD	$0{,}53^{b}\pm0{,}01$	pLD	$0{,}18^{bc}\pm0{,}02$	$0{,}51^{abcB}\pm0{,}04$	$2{,}53^{cA}\pm0{,}04$
$S_{205/189}$	$0{,}96^{bB}\pm0{,}03$	$2{,}06^{bcA}\pm0{,}02$	$0{,}14^{cB}\pm0{,}01$	$1{,}23^{bcA}\pm0{,}23$	$1{,}37^{bA}\pm0{,}14$	$1{,}86^{cdA}\pm0{,}19$	$0{,}01^{bA}\pm0{,}00$	$0{,}02^{cA}\pm0{,}00$	$0{,}01^{aB}\pm0{,}00$	$0{,}87^{aA}\pm0{,}01$	pLD	$0{,}09^{d}\pm0{,}01$
$S_{207/191}$	pLD	$0{,}58^{c}\pm0{,}01$	pLD	$0{,}14^{c}\pm0{,}05$	$3{,}11^{aB}\pm0{,}18$	$13{,}47^{bA}\pm0{,}48$	pLD	pLD	pLD	$0{,}03^{cd}\pm0{,}01$	$0{,}74^{aB}\pm003$	$7{,}19^{bA}\pm1{,}10$
S_{225}	$0{,}71^{bB}\pm0{,}02$	$6{,}37^{aA}\pm0{,}18$	$0{,}22^{abB}\pm0{,}02$	$2{,}06^{bcA}\pm0{,}26$	$0{,}81^{dB}\pm0{,}02$	$7{,}25^{bcA}\pm0{,}24$	$0{,}02^{aB}\pm0{,}01$	$0{,}21^{cA}\pm0{,}01$	pLD	$0{,}07^{cd}\pm0{,}01$	$0{,}69^{abB}\pm0{,}12$	$6{,}20^{bcA}\pm1{,}10$
$S_{305/305}$	$2{,}46^{aB}\pm0{,}12$	$3{,}40^{abcA}\pm0{,}04$	$0{,}17^{abcB}\pm0{,}01$	$6{,}43^{bA}\pm1{,}28$	$1{,}11^{cB}\pm0{,}08$	$6{,}31^{cA}\pm0{,}01$	pLD	$0{,}06^{cA}\pm0{,}01$	pLD	pLD	$0{,}87^{aA}\pm0{,}17$	$0{,}47^{dB}\pm0{,}18$

Klon	Mlekowy		Mrówkowy		Octowy		Szczawiowy		Suma	
	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2
S_1	$0{,}52^{bB}\pm0{,}05$	$3{,}20^{aA}\pm0{,}34$	pLD	pLD	pLD	pLD	$0{,}02^{eB}\pm0{,}00$	$10{,}37^{bA}\pm1{,}62$	$2{,}29^{dB}\pm0{,}06$	$26{,}46^{bcA}\pm2{,}08$
S_{30}	pLD	pLD	$0{,}25^{cdB}\pm0{,}03$	$0{,}53^{bA}\pm0{,}10$	$0{,}24^{dA}\pm0{,}04$	$0{,}15^{dB}\pm0{,}01$	$0{,}33^{deB}\pm0{,}03$	$4{,}70^{cdA}\pm0{,}40$	$2{,}93^{dB}\pm0{,}39$	$39{,}29^{bcA}\pm4{,}44$
S_{44}	$0{,}54^{bA}\pm0{,}04$	$0{,}03^{bB}\pm0{,}00$	$0{,}21^{cdB}\pm0{,}02$	$0{,}43^{bA}\pm0{,}05$	$0{,}52^{cd}\pm0{,}03$	pLD	$1{,}61^{bB}\pm0{,}01$	$7{,}79^{cA}\pm0{,}32$	$5{,}24^{cB}\pm0{,}13$	$46{,}95^{bA}\pm4{,}9$
S_{46}	$0{,}45^{bA}\pm0{,}05$	$0{,}03^{bB}\pm0{,}00$	$0{,}23^{cdA}\pm0{,}05$	$0{,}02^{cB}\pm0{,}00$	$0{,}54^{cB}\pm0{,}05$	$3{,}06^{cdA}\pm0{,}07$	pLD	pLD	$3{,}12^{dB}\pm0{,}10$	$15{,}28^{dA}\pm1{,}4$
S_{58}	$0{,}29^{b}\pm0{,}01$	pLD	$0{,}11^{dB}\pm0{,}02$	$1{,}73^{abA}\pm0{,}19$	$0{,}85^{bB}\pm0{,}03$	$10{,}86^{abA}\pm2{,}11$	$0{,}72^{deB}\pm0{,}03$	$5{,}91^{cdA}\pm0{,}29$	$4{,}34^{cdB}\pm0{,}55$	$38{,}55^{bcA}\pm3{,}10$
$S_{205/189}$	$0{,}46^{b}\pm0{,}02$	pLD	$0{,}22^{cdB}\pm0{,}01$	$2{,}16^{abA}\pm0{,}07$	pLD	$0{,}84^{d}\pm0{,}18$	$1{,}01^{bcB}\pm0{,}02$	$6{,}70^{cA}\pm0{,}90$	$4{,}18^{cdB}\pm0{,}44$	$15{,}83^{dA}\pm0{,}99$
$S_{207/191}$	$1{,}08^{a}\pm0{,}07$	pLD	$0{,}69^{bB}\pm0{,}02$	$4{,}92^{aA}\pm1{,}75$	$0{,}47^{cdB}\pm0{,}10$	$6{,}57^{bcA}\pm0{,}47$	$3{,}74^{aB}\pm0{,}19$	$40{,}58^{aA}\pm6{,}10$	$9{,}83^{bB}\pm1{,}01$	$73{,}48^{aA}\pm6{,}77$
S_{225}	$0{,}36^{bB}\pm0{,}03$	$3{,}20^{aA}\pm0{,}32$	$0{,}45^{bcB}\pm0{,}24$	$4{,}03^{aA}\pm0{,}21$	$1{,}34^{aB}\pm0{,}26$	$12{,}09^{aA}\pm2{,}32$	$0{,}89^{deB}\pm0{,}11$	$7{,}91^{cA}\pm1{,}01$	$5{,}49^{cB}\pm0{,}30$	$49{,}39^{bA}\pm3{,}45$
$S_{305/305}$	$1{,}29^{aA}\pm0{,}02$	$0{,}17^{bB}\pm0{,}02$	$9{,}85^{aA}\pm0{,}05$	$2{,}39^{abB}\pm0{,}07$	$1{,}27^{aA}\pm0{,}07$	$0{,}27^{dB}\pm0{,}07$	$3{,}80^{aA}\pm0{,}07$	$3{,}99^{cdA}\pm0{,}06$	$20{,}82^{aA}\pm4{,}25$	$23{,}49^{cA}\pm1{,}99$

Średnie wartości (n = 3) ± odchylenie standardowe; identyczne indeksy (a, b, c...) nie oznaczają żadnej istotnej ($p < 0{,}05$) różnicy między wartościami średnimi w kolumnie (między klonami *Salix*) według testu Tukey'a HSD (ANOVA) dla ryzosfery; identyczne indeksy górne (A, B) nie oznaczają żadnej istotnej ($p < 0{,}05$) różnicy między wartościami średnimi w wierszach (między pierwszą powierzchnią a drugą powierzchnią doświadczalną) zgodnie z wykonanym testem Studenta, P 1 – pierwsza powierzchnia, P 2 – druga powierzchnia
pLD – poniżej limitu detekcji

W profilu i zawartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w korzeniach i liściach wyselekcjonowanych klonów *Salix*, wykazałam również istotne znaczenie obu czynników: badanego klonu i stężenia metali na obu powierzchniach doświadczalnych (Tabela 6 i 7). W korzeniach wierzb zebranych z pierwszej powierzchni, całkowita zawartość kwasów wynosiła od 1,67±0,07 do 12,95±1,65 µmol 100 g^{-1} s.m., odpowiednio dla klonów *S.* ×*rubra* 4 (S_{30}) i *S. viminalis* 'PR' ($S_{305/305}$). Dla drugiej powierzchni wartości te wynosiły odpowiednio: 7,62±0,81 i 49,79±2,65 µmol 100 g^{-1} s.m., dla *S. purpurea* × *triandra* × *viminalis* 2 (S_{46}) oraz *S.* ×*rubra* 4 (S_{30}). **Stężenie kwasów: szczawiowego, octowego oraz cytrynowego było istotnie wyższe w korzeniach wierzb rosnących na drugiej powierzchni, w porównaniu do tych samych klonów pochodzących z pierwszej powierzchni.**

Całkowita zawartość kwasów w liściach *S.* ×*rubra* 4 (S_{30}) i *S.* ×*smithiana* ($S_{207/191}$) pochodzących z pierwszej powierzchni wynosiła odpowiednio 3,46±0,33 i 30,44±2,63 µM 100 g^{-1} s.m., natomiast dla *S. cinerea* ($S_{205/189}$) i *S. alba* (S_{225}) z drugiej powierzchni, zaobserwowano wzrost stężenia kwasów w oznaczanym organie wynoszące odpowiednio 21,68±4,12 i 78,12±3,95 µmol 100 g^{-1} s.m.

Wzrost całkowitej zawartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze, korzeniach i liściach był związany z wyższym stężeniem metali w glebie, co jest zbieżne z obserwacjami dokonanymi przeze mnie w ramach publikacji nr 2.

Tabela 6. Stężenie i profil kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w korzeniach badanych klonów *Salix* [µmol 100 g^{-1} s.m.] dla obu powierzchni doświadczalnych

Klon	Bursztynowy		Cytrynowy		Fumarowy		Jabłkowy		Maleinowy		Malonowy	
	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2
S_1	$1{,}11^{a}\pm0{,}58$	pLD	$3{,}86^{aA}\pm1{,}66$	$0{,}25^{efB}\pm0{,}06$	$0{,}01^{cB}\pm0{,}04$	$1{,}60^{bA}\pm0{,}25$	$0{,}55^{dB}\pm0{,}15$	$8{,}65^{bA}\pm1{,}34$	$0{,}09^{aA}\pm0{,}04$	$0{,}10^{cA}\pm0{,}01$	pLD	pLD
S_{30}	$0{,}01^{d}\pm0{,}00$	pLD	$0{,}24^{bA}\pm0{,}03$	$0{,}18^{fB}\pm0{,}04$	$0{,}03^{cB}\pm0{,}00$	$0{,}08^{cA}\pm0{,}01$	$0{,}14^{dB}\pm0{,}03$	$42{,}36^{aA}\pm2{,}56$	pLD	$0{,}02^{c}\pm0{,}00$	$0{,}53^{bcA}\pm0{,}06$	$0{,}04^{bB}\pm0{,}00$
S_{44}	$0{,}52^{cB}\pm0{,}03$	$2{,}45^{bA}\pm0{,}08$	$0{,}41^{bB}\pm0{,}02$	$13{,}19^{aA}\pm2{,}99$	pLD	pLD	$1{,}70^{bcB}\pm0{,}24$	$8{,}76^{bA}\pm1{,}09$	pLD	pLD	pLD	$0{,}14^{b}\pm0{,}02$
S_{46}	$0{,}51^{cB}\pm0{,}00$	$0{,}86^{cdA}\pm0{,}01$	$0{,}14^{bB}\pm0{,}02$	$1{,}97^{defA}\pm0{,}02$	$0{,}36^{abA}\pm0{,}06$	$0{,}03^{cB}\pm0{,}00$	$0{,}74^{cdA}\pm0{,}01$	$0{,}78^{dA}\pm0{,}06$	$0{,}02^{aB}\pm0{,}00$	$0{,}82^{aA}\pm0{,}01$	$0{,}18^{cA}\pm0{,}02$	$0{,}04^{bB}\pm0{,}01$
S_{58}	$2{,}01^{aA}\pm0{,}03$	$0{,}74^{cdB}\pm0{,}01$	$1{,}10^{bB}\pm0{,}02$	$3{,}34^{deA}\pm0{,}06$	$0{,}62^{aA}\pm0{,}06$	$0{,}34^{cB}\pm0{,}01$	$0{,}99^{bcdB}\pm0{,}04$	$5{,}72^{bcA}\pm0{,}16$	$0{,}09^{aA}\pm0{,}01$	$0{,}01^{cB}\pm0{,}00$	$0{,}87^{bA}\pm0{,}02$	$0{,}16^{bB}\pm0{,}02$
$S_{205/189}$	$1{,}03^{aB}\pm0{,}02$	$2{,}38^{bA}\pm0{,}06$	$0{,}15^{bB}\pm0{,}01$	$1{,}13^{eA}\pm0{,}15$	$0{,}23^{b}\pm0{,}02$	pLD	$1{,}97^{bA}\pm0{,}5$	$0{,}68^{dB}\pm0{,}05$	$0{,}02^{aB}\pm0{,}00$	$0{,}46^{bA}\pm0{,}12$	pLD	$0{,}05^{b}\pm0{,}01$
$S_{207/191}$	$1{,}30^{aA}\pm0{,}25$	$0{,}45^{cdB}\pm0{,}04$	$1{,}07^{bB}\pm0{,}22$	$9{,}41^{bA}\pm0{,}26$	$0{,}07^{cB}\pm0{,}01$	$3{,}82^{aA}\pm0{,}93$	$3{,}11^{aB}\pm0{,}18$	$10{,}71^{abA}\pm1{,}37$	pLD	pLD	pLD	$0{,}57^{a}\pm0{,}08$
S_{225}	$0{,}98^{bB}\pm0{,}01$	$1{,}43^{bcA}\pm0{,}08$	$3{,}15^{aB}\pm0{,}49$	$4{,}94^{cdA}\pm0{,}29$	$0{,}49^{abB}\pm0{,}09$	$4{,}12^{aA}\pm0{,}24$	$1{,}73^{bcB}\pm0{,}04$	$5{,}62^{bcA}\pm0{,}33$	$0{,}01^{a}\pm0{,}00$	pLD	$0{,}95^{a}\pm0{,}18$	pLD
$S_{305/305}$	$2{,}54^{aB}\pm1{,}32$	$3{,}86^{aA}\pm0{,}42$	$0{,}18^{bB}\pm0{,}02$	$7{,}78^{bcA}\pm1{,}07$	$0{,}26^{abA}\pm0{,}16$	$0{,}05^{cB}\pm0{,}00$	$1{,}08^{bcdB}\pm0{,}85$	$6{,}64^{bcA}\pm0{,}56$	pLD	pLD	pLD	$0{,}70^{a}\pm0{,}15$

Klon	Mlekowy		Mrówkowy		Octowy		Szczawiowy		Suma	
	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2
S_1	pLD	pLD	pLD	$8{,}43^{a}\pm1{,}32$	pLD	$2{,}61^{b}\pm0{,}32$	$0{,}44^{d}\pm0{,}23$	pLD	$6{,}15^{bcB}\pm0{,}99$	$21{,}64^{bA}\pm1{,}99$
S_{30}	pLD	pLD	$0{,}16^{abB}\pm0{,}03$	$0{,}68^{cA}\pm0{,}01$	$0{,}23^{bcB}\pm0{,}04$	$0{,}50^{cA}\pm0{,}01$	$0{,}33^{dB}\pm0{,}03$	$5{,}93^{bcA}\pm0{,}11$	$1{,}67^{dB}\pm0{,}07$	$49{,}79^{aA}\pm2{,}65$
S_{44}	$0{,}04^{bA}\pm0{,}01$	$0{,}03^{cA}\pm0{,}01$	$0{,}14^{abB}\pm0{,}03$	$0{,}41^{cA}\pm0{,}13$	$0{,}52^{b}\pm0{,}03$	pLD	$0{,}14^{dB}\pm0{,}01$	$7{,}51^{aA}\pm2{,}48$	$3{,}47^{cdB}\pm0{,}29$	$32{,}49^{abA}\pm1{,}12$
S_{46}	$0{,}35^{a}\pm0{,}03$	pLD	$0{,}18^{abA}\pm0{,}03$	$0{,}02^{dB}\pm0{,}00$	$0{,}43^{bB}\pm0{,}05$	$3{,}06^{bA}\pm0{,}07$	pLD	$0{,}04^{d}\pm0{,}01$	$2{,}91^{cdB}\pm0{,}08$	$7{,}62^{cA}\pm0{,}81$
S_{58}	pLD	pLD	$0{,}86^{aB}\pm0{,}07$	$1{,}13^{cA}\pm0{,}10$	$0{,}16^{bcB}\pm0{,}01$	$7{,}06^{aA}\pm1{,}36$	$0{,}97^{cdB}\pm0{,}07$	$3{,}84^{cA}\pm0{,}19$	$7{,}67^{abcB}\pm0{,}11$	$22{,}34^{bA}\pm2{,}10$
$S_{205/189}$	$0{,}07^{b}\pm0{,}01$	pLD	$0{,}23^{abB}\pm0{,}02$	$1{,}19^{bcA}\pm0{,}05$	pLD	$0{,}43^{c}\pm0{,}08$	$1{,}05^{cdB}\pm0{,}12$	$3{,}34^{cA}\pm0{,}04$	$4{,}75^{cdB}\pm0{,}22$	$9{,}66^{cA}\pm0{,}18$
$S_{207/191}$	$0{,}03^{bA}\pm0{,}01$	$0{,}03^{cA}\pm0{,}00$	$0{,}69^{abB}\pm0{,}02$	pLD	$0{,}05^{bcB}\pm0{,}01$	$5{,}46^{abA}\pm0{,}41$	$3{,}74^{bB}\pm0{,}19$	$7{,}65^{aA}\pm1{,}61$	$10{,}06^{abB}\pm0{,}99$	$38{,}10^{aA}\pm2{,}90$
S_{225}	$0{,}03^{bB}\pm0{,}01$	$0{,}06^{bA}\pm0{,}03$	$0{,}64^{abB}\pm0{,}03$	$1{,}32^{bcA}\pm0{,}07$	$1{,}86^{aB}\pm0{,}47$	$7{,}13^{aA}\pm0{,}04$	$2{,}08^{cB}\pm0{,}09$	$5{,}90^{bcA}\pm1{,}13$	$11{,}92^{aB}\pm1{,}55$	$30{,}52^{abA}\pm1{,}25$
$S_{305/305}$	$0{,}40^{aA}\pm0{,}06$	$0{,}21^{aB}\pm0{,}01$	pLD	$2{,}60^{b}\pm0{,}41$	$0{,}27^{bcA}\pm0{,}03$	$0{,}33^{cA}\pm0{,}02$	$8{,}22^{aA}\pm1{,}01$	$4{,}16^{cB}\pm0{,}33$	$12{,}95^{aB}\pm1{,}65$	$26{,}33^{bA}\pm2{,}13$

Średnie wartości (n = 3) ± odchylenie standardowe; identyczne indeksy górne (a, b, c…) nie oznaczają żadnej istotnej ($p < 0{,}05$) różnicy między wartościami średnimi w kolumnie (między klonami *Salix*) według testu Tukey'a HSD (ANOVA) dla korzeni; identyczne indeksy górne (A, B) nie oznaczają żadnej istotnej ($p < 0{,}05$) różnicy między wartościami średnimi w wierszach (między pierwszą powierzchnią a drugą powierzchnią doświadczalną) zgodnie z wykonanym testem Studenta, P 1 – pierwsza powierzchnia, P 2 – druga powierzchnia
pLD – poniżej limitu detekcji

Tabela 7. Stężenie i profil kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w liściach badanych klonów *Salix* [µmol 100 g^{-1} s.m.] dla obu powierzchni doświadczalnych

Klon	Bursztynowy		Cytrynowy		Fumarowy		Jabłkowy		Maleinowy		Malonowy	
	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2
S_1	$0,29^{abcdA}$±0,06	$0,31^{eA}$±0,02	$0,44^{bB}$±0,05	$1,04^{efA}$±0,27	pLD	$1,04^{b}$±0,12	$4,53^{bcB}$±1,02	$10,91^{bcA}$±0,84	pLD	$0,19^{d}$±0,02	pLD	pLD
S_{30}	$0,11^{dB}$±0,01	$2,93^{dA}$±0,18	$0,07^{c}$±0,00	pLD	pLD	pLD	$2,74^{cB}$±0,26	$27,67^{aA}$±1,98	pLD	$4,39^{c}$±0,29	pLD	pLD
S_{44}	$0,33^{abcdB}$± 0,03	$5,23^{cA}$±0,36	$0,26^{bB}$±0,04	$25,56^{aA}$±2,54	pLD	pLD	$4,36^{bcA}$±0,29	$0,60^{dB}$±0,03	$0,02^{bB}$±0,00	$14,69^{aA}$±1,33	pLD	pLD
S_{46}	$0,51^{abB}$±0,01	$8,90^{aA}$±0,20	$0,22^{bB}$±0,02	$12,33^{cA}$±1,86	pLD	pLD	$4,06^{bcA}$±0,15	$1,76^{dB}$±0,19	$0,01^{b}$±0,00	pLD	pLD	pLD
S_{58}	$0,27^{bcdB}$±0,02	$5,19^{cA}$±0,57	$0,09^{cB}$±0,01	$11,56^{cA}$±1,01	pLD	pLD	$3,84^{bcB}$±0,02	$24,78^{aA}$±1,71	pLD	$6,83^{ba}$±0,07	pLD	$2,18^{b}$±0,01
$S_{205/189}$	$0,37^{abcdA}$±0,01	$0,17^{eB}$±0,01	$0,05^{cB}$±0,01	$6,78^{dA}$±0,54	pLD	$0,20^{c}$±0,00	$4,15^{bcB}$±0,15	$8,18^{cA}$±0,04	$0,06^{aB}$±0,01	$0,08^{dA}$±0,00	pLD	pLD
$S_{207/191}$	$0,54^{aB}$±0,17	$5,36^{cA}$±0,54	$6,66^{aA}$±0,66	$3,76^{deB}$±0,25	pLD	$0,02^{c}$±0,00	$16,48^{aA}$±1,32	$0,14^{dB}$±0,01	pLD	$4,61^{c}$±0,20	pLD	$12,17^{a}$±0,85
S_{225}	$0,21^{cdB}$±0,01	$5,12^{cA}$±1,01	$0,10^{bB}$±0,07	$15,97^{bA}$±1,53	pLD	pLD	$5,72^{bB}$±1,29	$25,91^{aA}$±5,13	pLD	$7,94^{b}$±0,84	$2,46^{aB}$±0,55	$11,87^{aA}$±1,84
$S_{305/305}$	$0,38^{abcB}$±0,01	$7,33^{bA}$±0,15	$0,50^{bB}$±0,02	$16,98^{bA}$±0,36	pLD	$2,53^{a}$±0,05	$3,99^{bcB}$±0,18	$19,60^{abA}$±0,51	pLD	$0,10^{d}$±0,00	$2,08^{aB}$±0,42	$2,98^{bA}$±0,12

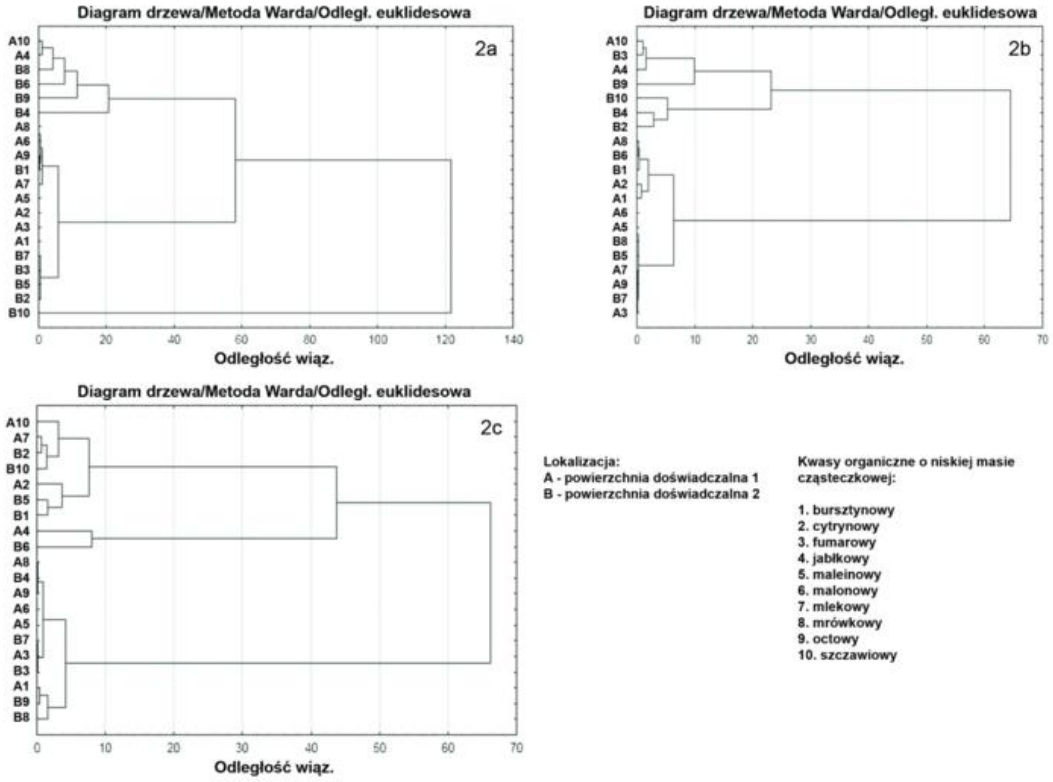
Klon	Mlekowy		Mrówkowy		Octowy		Szczawiowy		Suma	
	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2
S_1	$0,41^{bc}$±0,04	pLD	$0,16^{bcB}$±0,03	$4,35^{abA}$±0,40	$0,06^{cdB}$±0,01	$3,31^{bA}$±0,20	$0,88^{cA}$±0,04	$0,53^{dB}$±0,03	$6,77^{bcB}$±1,22	$21,68^{dA}$±4,12
S_{30}	$0,17^{c}$±0,01	pLD	$0,03^{deB}$±0,00	$2,35^{bcA}$±0,02	$0,01^{dA}$±0,00	pLD	$0,33^{cB}$±0,02	$4,60^{cA}$±0,047	$3,46^{cdB}$±0,33	$41,95^{cA}$±2,01
S_{44}	$0,09^{d}$±0,01	pLD	$0,07^{cdeB}$±0,01	$0,73^{cA}$±0,04	pLD	pLD	$0,34^{cB}$±0,03	$8,59^{abA}$±0,50	$5,47^{cB}$±0,39	$55,40^{bA}$±2,99
S_{46}	$0,35^{bc}$±0,04	pLD	$0,13^{bcde}$±0,03	pLD	$0,08^{cdB}$±0,01	$0,14^{fgA}$±0,01	$0,44^{c}$±0,03	pLD	$5,80^{cB}$±0,17	$23,13^{dA}$±1,95
S_{58}	$0,02^{d}$±0,00	pLD	$0,53^{aB}$±0,02	$1,38^{bcA}$±0,03	$0,07^{cdB}$±0,00	$1,06^{deA}$±0,10	$0,51^{cB}$±0,01	$4,46^{cA}$±1,09	$5,33^{cB}$±0,05	$57,44^{bA}$±3,45
$S_{205/189}$	$0,82^{b}$±0,02	pLD	$0,02^{eB}$±0,01	$0,30^{cA}$±0,02	$0,12^{bB}$±0,01	$2,46^{cA}$±0,21	$3,67^{aA}$±0,22	$3,35^{cA}$±0,02	$9,26^{bB}$±0,23	$21,52^{dA}$±1,55
$S_{207/191}$	$4,00^{a}$±0,40	pLD	$0,15^{bcdB}$±0,04	$1,31^{bcA}$±0,03	$0,20^{aB}$±0,02	$0,68^{efA}$±0,04	$2,41^{bB}$±0,33	$3,57^{cA}$±0,05	$30,44^{aA}$±2,63	$31,62^{cdA}$±0,25
S_{225}	$0,26^{cA}$±0,08	$0,01^{aB}$±0,00	$0,21^{bB}$±0,01	$1,97^{bcA}$±0,59	$0,03^{cdB}$±0,01	$1,53^{dA}$±0,19	$0,35^{cB}$±0,03	$7,80^{bA}$±1,85	$9,34^{bB}$±0,99	$78,12^{aA}$±3,95
$S_{305/305}$	$0,76^{b}$±0,06	pLD	$0,08^{bcdeB}$±0,01	$6,84^{aA}$±0,37	$0,10^{bcB}$±0,01	$4,00^{aA}$±0,04	$3,34^{aB}$±0,13	$10,98^{aA}$±1,04	$8,23^{bcB}$±0,44	$71,34^{aA}$±3,75

Średnie wartości (n = 3) ± odchylenie standardowe; identyczne indeksy górne (a, b, c...) nie oznaczają żadnej istotnej (p <0,05) różnicy między wartościami średnimi w kolumnie (między klonami *Salix*) według testu Tukey'a HSD (ANOVA) dla liści; identyczne indeksy górne (A, B) nie oznaczają żadnej istotnej (p <0,05) różnicy między wartościami średnimi w wierszach (między pierwszą powierzchnią a drugą powierzchnią doświadczalną) zgodnie z wykonanym testem Studenta, P 1 – pierwsza powierzchnia, P 2 – druga powierzchnia
pLD – poniżej limitu detekcji

Istotną zależność pomiędzy profilem i stężeniem analizowanych kwasów w ryzosferze, korzeniach i liściach, a powierzchniami doświadczalnymi wykazałam statystycznie za pomocą metody grupowania (metoda Warda). Uzyskane wyniki przedstawiłam na przykładzie klonu *S.* ×*smithiana* ($S_{207/191}$) (Rysunek 2).

Dla ryzosfery (Rysunek 2a) oznaczyłam cztery podgrupy kwasów o podobnym poziomie stężeń. Pierwsza z nich zawierała kwas: szczawiowy i jabłkowy oznaczony na pierwszej powierzchni oraz kwas: mrówkowy, malonowy, octowy i jabłkowy występujące na drugiej powierzchni. Druga podgrupa obejmowała kwas: mrówkowy, malonowy, octowy i mlekowy oznaczone w podobnej ilości w ryzosferze pierwszej powierzchni. Trzecia podgrupa zwierała kwasy: maleinowy, cytrynowy, fumarowy i bursztynowy oznaczone na drugiej powierzchni, gdzie jednocześnie ich ilość oznaczona została na zdecydowanie wyższym poziomie stężeń. Wart podkreślenia jest fakt, że zawartość kwasu szczawiowego zdecydowanie wzrosła na drugiej powierzchni, w porównianiu z jego zawartością oznaczaną na pierwszej powierzchni, tworząc dodatkową podgrupę w korzeniach (Rysunek 2b). Analiza skupień dla korzeni wskazała na obecność dwóch głównych grup kwasów oznaczonych na podobnych poziomach stężeń, które następnie dzieliły się na dwie mniejsze podgrupy. W obrębie pierwszej grupy różnicowanie kwasów było znacznie wyższe w porównaniu z drugą grupą. Podobne zależności jakie oznaczyłam dla *S.* ×*smithiana* ($S_{207/191}$), stwierdziłam także dla klonów *S. purpurea* × *triandra* × *viminalis* 2 (S_{46}), *S. cinerea* ($S_{205/189}$) i *S. viminalis* 'PR' ($S_{305/305}$).

W przypadku liści, uzyskane wyniki rozproszenia są podobne do tych prezentowanych na poziomie korzeni (Rysunek 2c). Wskazałam, że dla liści z pierwszej powierzchni obecność kwasu: octowego, maleinowego, jabłkowego i bursztynowego była skorelowana z zawartością metali w glebie, podczas gdy na terenie drugiej powierzchni, gdzie obecność metali była zdecydownie wyższa (zwłaszcza Cu), była skorelowana z obecnością kwasu: mlekowego, fumarowego, octowego i mrówkowego. Podobne zależności wykazałam dla *S. purpurea* × *triandra* × *viminalis* 2 (S_{46}), *S. cinerea* ($S_{205/189}$) i *S. viminalis* 'PR' ($S_{305/305}$).



Rysunek 2. Dendrogram analizy skupień kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej dla klonu *S.* ×*smithiana* ($S_{207/191}$) w glebie (2a), w korzeniach (2b) i w liściach (2c) z obu powierzchni doświadczalnych

W pracy **jednoznacznie potwierdziłam, że wyższe stężenia pierwiastków w glebie są bezpośrednio związane z wyższym stężeniem kwasów o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze, korzeniach i liściach wierzb**, a także w konsekwencji wyższej zawartości metali w ich organach. **Metale obecne w glebie na drugiej powierzchni powodowały istotny wzrost** ($p>0,05$) **stężenia kwasów: szczawiowego, jabłkowego i octowego w ryzosferze, a także zawartości kwasów: jabłkowego, octowego oraz cytrynowego w korzeniach i liściach**. Stwierdziłam, że detoksykacja metali (Cu, Pb i Zn) w badanych klonach obejmuje zarówno wydzielanie kwasów organicznych z korzeni do ryzosfery oraz tworzenie w organach, jako jedne z cząsteczek organicznych uczestniczących w reakcji kompleksowania (metal – kwas).

Wnioski ww. przeprowadzonych prac badawczych dotyczących roślin drzewiastych

Wykazałam, że:

- profil oraz ilość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, uwarunkowane były rodzajem badanej rośliny drzewiastej;
- zależnie od metalu i stężenia działającego na dany gatunek rośliny drzewiastej, istotnej zmianie ulegał ich profil oraz ilość;
- ilość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej wydzielanych do ryzosfery *S. purpurea* × *viminalis* istotnie wzrastała wraz ze wzrostem stężenia Cu dla układów zawierających tylko piasek kwarcowy, podczas gdy dodatek podłoża po uprawie pieczarki *A. bisporus* oraz Cu skutkował ich istonym spadkiem;
- dla *S. purpurea* × *viminalis* dominującymi w ryzosferze kwasami były: cytrynowy, mrówkowy, octowy oraz szczawiowy (dla wszystkich badanych układów);
- ilość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej wydzielanych do ryzosfery oraz tworzonych w organach (korzenie, liście) badanych klonów wierzb istotnie wzrastała wraz ze wzrostem stężenia metalu/metali w badanych układach;
- profil badanych kwasów uwarunkowany był charakterem metalu znajdującego się w podwyższonym stężeniu oraz badanym organem;
- wierzby rosnące w warunkach podwyższonego stężenia metalu/metali, charakteryzowały się znaczącą zdolnością do ich akumulacji z jednoczesnym wzrostem zawartości kwasów organicznych w badanych organach, bez negatywnych oznak o charakterze makroskopowym wpływu tych metali;
- zwiększenie stężenia wydzielanych kwasów w ryzosferze oraz tworzenie ich w korzeniach i liściach wierzb, wskazuje na ich zaangażowanie w chelatację, akumulację, a następnie translokację metali, jako jeden z prawdopodobnych mechanizmów detoksykacji.

Obok roślin, zdecydowanie wyższą akumulacją pierwiastków śladowych, w tym metali ciężkich, charakteryzują się również grzyby. Zdolność do pobierania pierwiastków jest zależna od gatunku grzyba oraz miejsca jego wzrostu (grzyby rosnące na podłożu oraz grzyby rosnące na drzewach).

Udział w projekcie naukowym zatytułowanym „Bioakumulacja metali ciężkich przez grzyby jadalne miarą zanieczyszczenia środowiska", finansowanym ze środków Narodowego Centrum Nauki w latach 2010-2013 (N N305 372538), pozwolił mi na rozszerzanie dotychczasowego zakresu badań o grzyby jadalne rosnące zarówno na glebie, jak i na drzewie.

Niewielka ilość dostępnych prac wskazuje na istotną rolę badanych kwasów organicznych, jako bioaktywnych składników w grzybach dzikorosnących, szczególnie w sytuacji ich narażenia na niekorzystne warunki środowiska, w tym obecność pierwiastków toksycznych. Bioaktywne właściwości kwasów organicznych obejmują właściwości antyoksydacyjne (zwłaszcza kwasy: jabłkowy, winowy, cytrynowy oraz bursztynowy), a także ich zdolność transferu elektronów związanego z delokalizacją ładunku elektycznego pochodzącego od wolnych rodników, a w konsekwencji i tworzenia związków kompleksowych z metalami. Profil kwasów został oznaczony między innymi w owocnikach takich gatunków grzybów jak: muchomor cesarski (*Amanita caesarea*), piaskowiec kasztanowaty (*Gyroporus castaneus*), mleczaj rydz (*Lactarius deliciosus*), maślak rdzawobrązowy (*Suillus collinitus*), podgrzybek złotopory (*Xerocomus chrysenteron*) i borowik szlachetny (*Boletus edulis*) (Valentão i wsp. 2005), ozorek dębowy (*Fistulina hepatica*) (Ribeiro i wsp. 2006), muchomor czerwieniejący (*Amanita rubescens*), gołąbek zielono-fioletowy (*Russula cyanoxantha*), maślak ziarnisty (*Suillus granulatus*) (Ribeiro i wsp. 2008a), jak również w grzybni pieczarki (*Agaricus blazei*) (Carvajal i wsp. 2012) lub białokrowiaka okazałego (*Leucopaxillus giganteus*) (Ribeiro i wsp. 2008b). Mimo to, brak jak dotąd w literaturze danych dotyczących kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej (profil i ilość) w połączniu z zawartością pierwiastków śladowych, w tym metali ciężkich/metaloidów w owocnikach grzybów. Dlatego też, przeprowadziłam badania w celu:

- przedstawienia profilu i zawartości wybranych kwasów organicznych w owocnikach grzybów dzikorosnących,
- wskazania zależności pomiędzy zawartością i profilem oznaczanych kwasów, a pierwiastkami śladowymi (w tym metalami ciężkimi/metaloidem),
- porównania tworzenia kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej przez gatunki grzybów na drzewie i rosnących na glebie,
- próby określenia roli kwasów w obecności wybranych metali dla poszczególnych gatunków w zależności od zanieczyszczenia środowiska, jak i miejsca wzrostu owocnika.

Rezultatem powyższych badań jest kolejna praca wchodząca w skład mojego osiągnięcia naukowego. Praca opublikowana została pod tytłem **„Content of selected elements and low-molecular-weight organic acids in fruiting bodies of edible mushroom *Boletus badius* (Fr.) Fr. from unpolluted and polluted areas”**. W pracy tej skupiłam uwagę na porównaniu zawartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w zależności od ilości metali obecnych w owocnikach podgrzybka brunatnego - *Boletus badius* (*B. badius*) oraz na próbie określenia zależności pomiędzy nimi. Analizowane owocniki rosły na dwóch terenach istotnie zróżnicowanych pod względem ekologicznym. Teren czysty obejmował gleby piaszczyste i kwaśne położone w Wielkopolsce (Obszar 1 i 2), natomiast teren zanieczyszczony (Obszar 3 i 4) zlokalizowany był w województwie dolnośląskim. Teren ten charakteryzował się znaczącą zawartością metali ze względu na bliskie sąsiedztwo przemysłu hutniczego (np. hut miedzi).

Informacje dotyczące analizy zawartości kwasów organicznych z jednoczesną analizą pierwiastkową w owocnikach grzybów do tej pory były ograniczone, a w przypadku *B. badius* brak było podobnych doniesień. Przeprowadzone przeze mnie badania wskazały na obecność dziewięciu spośród dziesięciu analizowanych kwasów (Tabela 8).

Tabela 8. Zawartość [mg g^{-1} s.m.] i profil kwasów o niskiej masie cząsteczkowej w owocnikach *Boletus badius* zebranych z terenu czystego oraz zanieczyszczonego

Kwas	Teren czysty		Teren zanieczyszczony	
	Obszar 1	Obszar 2	Obszar 3	Obszar 4
Bursztynowy	$8{,}88^{a}\pm0{,}333$	$5{,}30^{b}\pm0{,}38$	$4{,}23^{b}\pm0{,}60$	$2{,}88^{c}\pm0{,}67$
Cytrynowy	$0{,}50^{b}\pm0{,}050$	$0{,}56^{b}\pm0{,}203$	$5{,}41^{a}\pm0{,}596$	$4{,}61^{a}\pm0{,}29$
Fumarowy	$0{,}01^{a}\pm0{,}00$	$0{,}17^{a}\pm0{,}11$	$0{,}02^{a}\pm0{,}00$	$0{,}02^{a}\pm0{,}00$
Jabłkowy	$0{,}43^{b}\pm0{,}04$	$0{,}43^{b}\pm0{,}08$	$0{,}06^{a}\pm0{,}01$	$0{,}06^{a}\pm0{,}01$
Maleinowy	pLD	pLD	pLD	pLD
Malonowy	$0{,}95^{a}\pm0{,}09$	$1{,}05^{a}\pm0{,}24$	$0{,}26^{b}\pm0{,}05$	$0{,}29^{b}\pm0{,}04$
Mlekowy	$7{,}17^{b}\pm0{,}61$	$9{,}60^{b}\pm1{,}53$	$11{,}20^{ab}\pm1{,}7$	$14{,}8^{a}\pm2{,}0$
Mrówkowy	$0{,}18^{ab}\pm0{,}02$	$0{,}15^{ab}\pm0{,}01$	$0{,}19^{a}\pm0{,}03$	$0{,}12^{b}\pm0{,}02$
Octowy	$0{,}04^{b}\pm0{,}00$	$0{,}03^{b}\pm0{,}01$	$0{,}07^{a}\pm0{,}01$	$0{,}07^{a}\pm0{,}01$
Szczawiowy	$1{,}37^{a}\pm0{,}14$	$1{,}01^{b}\pm0{,}01$	$0{,}74^{b}\pm0{,}07$	$0{,}37^{c}\pm0{,}11$
Suma	$19{,}5^{a}\pm1{,}1$	$18{,}3^{a}\pm2{,}5$	$22{,}2^{a}\pm1{,}4$	$23{,}2^{a}\pm3{,}2$

Średnie wartości (n = 5) ± odchylenie standardowe; identyczne indeksy górne (a,b, c…) nie oznaczają żadnej istotnej ($p < 0{,}05$) różnicy między wartościami średnimi w wierszach według testu Tukeya HSD (ANOVA) dla całych owoców
pLD – poniżej limitu detekcji

Średnia zawartość kwasu mlekowego w owocnikach zebranych z terenu uznanego za czysty ekologicznie (Obszar 1 i 2) wynosiła odpowiednio 7,17±0,61 i 9,60±1,52 mg g^{-1} s.m., a kwasu bursztynowego 8,88±0,33 i 5,30±0,38 mg g^{-1} s.m. Na terenie zanieczyszczonym

(Obszar 3 i 4) zawartość kwasu mlekowego w owocnikach wzrosła do 11,20±1,70 i 14,80±2,00 mg g^{-1} s.m., natomiast bursztynowego istotnie spadła do 4,23±0,61 i 2,89±0,67 mg g^{-1} s.m., w porównaniu do terenu czystego. Z kolei **zawartość kwasu cytrynowego w owocnikach zebranych z terenu zanieczyszczonego wzrosła prawie 10-cio krotnie w porównaniu do zawartości tego kwasu w owocnikach zebranych z terenu czystego**. Zdecydowany wzrost zawartości kwasu cytrynowego może wskazywać na jego rolę w utrzymaniu równowagi na poziomie komórki, poprzez zdolność do tworzenia związków kompleksowych z pobranymi metalami. Ogólny wzrost zawartości analizowanych kwasów mógł wpływać na zdolność *B. badius* do pobierania i akumulowania istotnych ilości pierwiastków śladowych oraz metali.

Zależność pomiędzy kwasami organicznymi o niskiej masie cząsteczkowej i analizowanymi metalami, wykazałam również za pomocą współczynnika korelacji Pearsona (r) (Tabela 9). Zawartość kwasów: cytrynowego i szczawiowego była istotnie dodatnio skorelowana z Al, B, Ce, Er, Nd, Pb oraz Se, natomiast zawartość kwasów malonowego i jabłkowego wykazywała silną pozytywną korelację z Ba i Mn. Z drugiej strony oznaczyłam ujemną korelację pomiędzy zawartością kwasu jabłkowego, a Al, B, Ca, Ce, Er, Hg, Mg, Nd, Pb, Sb, Se, Sr i Te, kwasu malonowego a Ca, Mg i Nd oraz kwasu cytrynowego a Ba i Mn.

Tabela 9. Współczynniki korelacji Pearsona (r) między zawartością poszczególnych kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej a pierwiastkiem w owocnikach *Boletus badius*

Pierwiastek	Kwasy o niskiej masie cząsteczkowej							
	Bursztynowy	Cytrynowy	Jabłkowy	Malonowy	Mlekowy	Octowy	Szczawiowy	Suma
Al	-0,6786*	0,9635*	-0,9250*	-0,8964*	0,6901*	0,9069*	-0,7508*	0,6761*
As		0,9200*	-0,8150*	-0,7910*		0,8311*		
B	-0,7536*	0,9480*	-0,9362*	-0,8912*	0,7603*	0,9012*	-0,8418*	0,6701*
Ba	0,8107*	-0,9368*	0,9506*	0,9027*	-0,7043*	-0,8236*	0,8726*	
Ca	-0,7371*	0,9940*	-0,9607*	-0,9246*	0,6749*	0,8963*	-0,7897*	0,6299*
Cd		0,6782*			0,239	0,6742*		
Ce	-0,7048*	0,9905*	-0,9373*	-0,8950*	0,6391*	0,9007*	-0,7567*	0,6242*
Co	-0,6792*	0,9754*	-0,8945*	-0,8505*	0,6028*	0,8863*	-0,6993*	0,6114*
Cu			0,6525*	0,6443*			0,6323*	
Dy	-0,7774*	0,8694*	-0,8375*	-0,7782*	0,7967*	0,8729*	-0,8344*	0,6547*
Er	-0,7623*	0,9691*	-0,9419*	-0,8933*	0,7423*	0,9163*	-0,8369*	0,6617*
Eu		0,6455*						
Fe					0,5763*			
Gd		0,6418*	-0,6578*	-0,6370*	0,6465*	0,7379*	-0,5966*	0,6502*
Hg	-0,6793*	0,9406*	-0,9162*	-0,8809*	0,7008*	0,8844*	-0,7667*	0,6693*
La			0,6748*	0,6693*			0,6211*	
Li	0,7184*						0,5828*	
Lu	-0,6435*	0,9303*	-0,8522*	-0,8083*	0,6454*	0,8990*	-0,6943*	0,6562*
Mg	-0,6953*	0,9890*	-0,9474*	-0,9170*	0,6492*	0,8864*	-0,7444*	0,6384*
Mn	0,6330*	-0,9095*	0,9339*	0,9082*	-0,6267*	-0,8253*	0,7647*	-0,5964*
Mo	-0,5919*	0,9665*	-0,8836*	-0,8507*		0,8669*	-0,6309*	0,5922*
Na		0,9377*	-0,8744*	-0,8518*		0,8257*	-0,6249*	0,6245*
Nd	-0,7156*	0,9934*	-0,9518*	-0,9149*	0,6697*	0,9003*	-0,7647*	0,6461*
Ni	0,8066*		0,6880*	0,6347*	-0,6944*		0,8622*	
P	0,8310*		0,6599*	0,6049*	-0,6906*		0,8630*	
Pb	-0,7855*	0,9627*	-0,9232*	-0,8693*	0,7470*	0,9101*	-0,8373*	0,6499*
Sb	-0,6624*	0,9865*	-0,9242*	-0,8862*	0,5926*	0,8894*	-0,7117*	0,6119*
Sc	-0,6737*	0,9037*	-0,7956*	-0,7437*		0,8274*	-0,6492*	
Se	-0,7619*	0,9497*	-0,9362*	-0,8880*	0,7666*	0,9118*	-0,8521*	0,6712*
Sr	-0,6616*	0,9844*	-0,9189*	-0,8807*	0,5775*	0,8793*	-0,7027*	0,5976*
Te	-0,6742*	0,9887*	-0,9309*	-0,8920*	0,6063*	0,8930*	-0,7264*	0,6159*
Y		0,9282*	-0,8289*	-0,7978*		0,7958*		
Zn		0,6731*						

* - znaczące przy $p<0,05$

W tej pracy **stwierdziłam, że zawartość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w owocnikach *B. badius* zależała od warunków środowiskowych. Wykazałam również, że zawartość kwasów w owocnikach rosła wraz ze stężeniem metali w glebie**, a wzrost mógł być związany z ich udziałem w procesie akumulacji pierwiastków z podłoża.

Tematyka grzybów jest obszerna i może dotyczyć grzybów rosnących na glebie lub na drzewie, zarówno gatunków grzybów jadalnych i niejadalnych. Do tej pory brak w literaturze światowej informacji dotyczących ilości kwasów organicznych w grzybach jadalnych rosnących na glebie lub drzewie, wraz z analizą wielopierwiastkową. Brak takich doniesień stał się podstawą do przygotowania przeze mnie kolejnej pracy zatytułowanej. **„Characteristics of organic acid profiles in 16 species of wild growing edible mushrooms”**.

Do badań wybrałam dziewięć rosnących na glebie gatunków jadalnych: pieprznik jadalny (*Cantharellus cibarius* Fr.), laskówka ametystowa (*Laccaria amethystina* (Huds.) Cooke), podblaszek przydymiony (*Lyophyllum fumosum* (Pers.) P.D. Orton), gąsówka płowa (*Lepista gilva* (Pers.) Pat.), koźlarz babka (*Leccinum scabrum* (Bull.) Gray), czubajka kania (*Macrolepiota procera* (Scop.) Singer), maślak sitarz (*Suillus bovinus* (L.) Roussel), maślak zwyczajny (*Suillus luteus* (L.) Roussel), oraz gąsówka zielona (*Tricholoma equestre* (L.) P. Kumm.), jak również siedem rosnących na drzewie: ucho bzowe (*Auricularia auricula-judae* (Bull.) Quél.), opieńka miodowa (*Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm.), płomiennica zimowa (*Flammulina velutipes* (Curtis) Singer), żagwica łuskowa (*Grifola frondosa* (Dicks.) Gray), boczniak ostrygowaty (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.), boczniak (*Pleurotus* sp.) oraz żagiew łuskowata (*Polyporus squamosus* (Huds.) Fr.). Owocniki grzybów zebrane zostały przy ruchliwej (około 28 000 pojazdów na dobę) trasie szybkiego ruchu S11 w województwie wielkopolskim.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdziłam, że dla grzybów rosnących na glebie kwasy: bursztynowy, cytrynowy, malonowy, jabłkowy oraz szczawiowy były dominującymi. Najwyższą sumaryczną zawartość kwasów oznaczyłam w owocnikach *L. gilva* (267,5±26,6 mg g^{-1} s.m.), a dominującymi dla tego gatunku kwasami były: szczawiowy, bursztynowy oraz cytrynowy. Wysoką zawartością kwasów charakteryzowały się także owocniki *T. equestre*, *L. scabrum* i *S. bovinus* (odpowiednio 206,7±14,1; 136,8±12,1 i 105,8±10,1 mg g^{-1} s.m.). W owocnikach *T. equestre* stwierdziłam dominującą ilość kwasu szczawiowego, *S. bovinus* kwasu malonowego, natomiast dla *L. scabrum* kwasów

bursztynowego oraz malonowego. Pozostałe gatunki grzybów rosnących na glebie charakteryzowały się istotnie niższą zawartością analizowanych kwasów (od 37,8±6,5 mg g^{-1} s.m. dla *L. amethystina* do 74,1±18,8 mg g^{-1} s.m. dla *L. fumosum*). W owocnikach grzybów, zawartość kwasu fumarowego kształtowała się na zdecydowanie niższym poziomie, natomiast kwas octowy występował sporadycznie (Tabela 10).

Wśród grzybów rosnących na drzewach najwyższe ilości kwasów oznaczyłam w owocnikach *F. velutipes* (171,9±26,7 mg g^{-1} s.m.). Gatunek ten odznaczał się zdecydowanie wyższą zawartością kwasu malonowego, następnie kwasów: mrówkowego, jabłkowego oraz szczawiowego. Zawartość kwasów: octowego, cytrynowego, fumarowego, maleinowego oraz bursztynowego była poniżej poziomu detekcji. W owocnikach *A. auricula-judae* i *A. mellea* oznaczyłam również wysoką łączną zawartość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej (wynoszącą odpowiednio 96,8±7,8 i 86,6±12,4 mg g^{-1} s.m.). W obu tych gatunkach oznaczyłam najwyższe stężenie kwasu bursztynowego (odpowiednio 66,1±8,9 i 56,8±7,1 mg g^{-1} s.m.). Owocniki *P. ostreatus* oraz *Pleurotus* spp. charakteryzowały się znaczącą wartością sumarycznej zawartości analizowanych kwasów organicznych (odpowiednio 86,6±14,6 i 63,5±9,6 mg g^{-1} s.m.). Dla *P. ostreatus* dominującymi były kwasy: cytrynowy, bursztynowy oraz szczawiowy, natomiast dla boczniaka dodatkowo także kwas malonowy. Pozostałe kwasy dla obu gatunków *Pleurotus* były poniżej poziomu detekcji (Tabela 10).

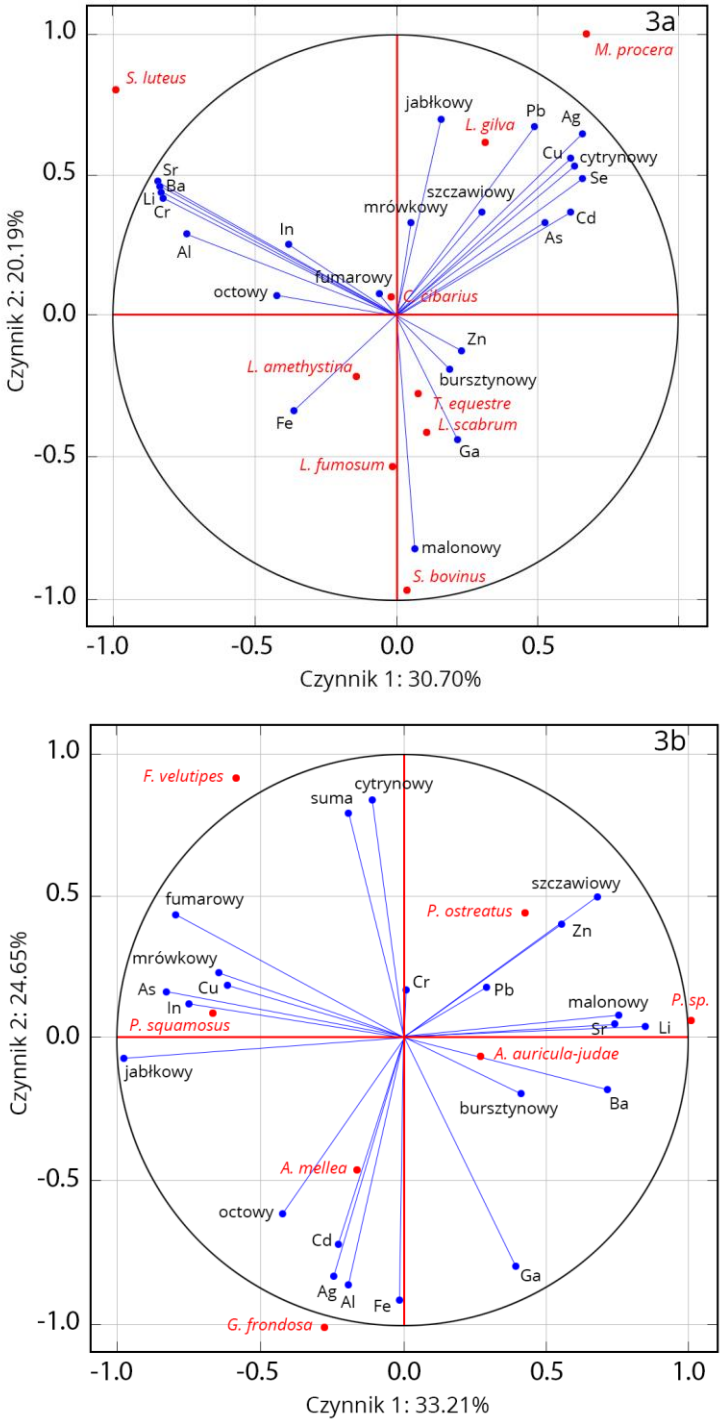
Tabela 10. Zawartość [mg g^{-1} s.m.] i profil kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w analizowanych owocnikach grzybów dzikorosnących

Gatunki rosnące na glebie	Bursztynowy	Cytrynowy	Fumarowy	Jabłkowy	Maleinowy	Malonowy	Mrówkowy	Octowy	Szczawiowy	Suma
C. cibarius	pLD	$11,4^{c}$±2,4	$4,5^{a}$±0,5	$30,3^{a}$±4,5	pLD	pLD	$3,7^{c}$±0,7	$6,3^{b}$±1,0	$1,2^{b}$±0,2	$57,4^{e}$±9,7
L. amethystina	pLD	pLD	$4,5^{a}$±0,9	pLD	$0,6^{b}$±0,3	$9,5^{c}$±2,1	$10,6^{b}$±2,0	$11,4^{a}$±1,7	$1,2^{b}$±0,3	$37,8^{e}$±6,5
L. fumosum	$19,7^{c}$±2,9	$10,3^{c}$±2,1	pLD	$2,0^{d}$±0,4	pLD	$41,5^{b}$±4,2	pLD	pLD	$0,6^{b}$±0,3	$74,1^{de}$±18,8
L. gilva	$66,6^{b}$±5,2	$51,7^{a}$±5,7	pLD	$23,7^{ab}$±3,2	pLD	pLD	$18,2^{a}$±2,4	pLD	$107,2^{a}$±21,4	$267,5^{a}$±26,6
L. scabrum	$76,6^{b}$±6,2	$10,2^{c}$±1,9	$0,2^{b}$±0,1	$4,3^{d}$±1,6	pLD	$39,1^{b}$±4,7	pLD	pLD	$6,4^{b}$±1,1	$136,8^{c}$±12,1
M. procera	pLD	$47,9^{ab}$±4,8	$0,9^{b}$±0,3	$18,6^{bc}$±3,3	pLD	pLD	pLD	pLD	$6,4^{b}$±0,7	$73,8^{de}$±5,9
S. bovinus	$12,7^{c}$±3,2	$9,7^{c}$±1,4	pLD	pLD	pLD	$82,9^{a}$±15,6	pLD	pLD	$0,5^{b}$±0,1	$105,8^{cd}$±10,1
S. luteus	$7,0^{c}$±1,7	$9,1^{c}$±1,6	$0,5^{b}$±0,1	$13,8^{c}$±2,3	$11,6^{a}$±0,5	pLD	$2,8^{c}$±0,4	$4,2^{b}$±0,3	$1,2^{b}$±1,0	$50,72^{e}$±4,1
T. equestre	$138,0^{a}$±34,5	$40,4^{b}$+4,3	pLD	$6,3^{d}$±0,6	pLD	$17,6^{c}$±3,9	pLD	pLD	$4,4^{b}$±0,7	$206,7^{b}$±14,1
Gatunki rosnące na drzewie	Bursztynowy	Cytrynowy	Fumarowy	Jabłkowy	Maleinowy	Malonowy	Mrówkowy	Octowy	Szczawiowy	Suma
A. auricula-judae	$66,1^{a}$±8,9	$22,0^{c}$±3,1	pLD	pLD	pLD	pLD	pLD	$5,9^{b}$±1,9	$2,8^{bc}$±1,2	$96,8^{b}$±7,8
A. mellea	$56,8^{a}$±7,1	$3,1^{d}$±0,2	$1,9^{c}$±0,7	$5,2^{c}$±1,6	pLD	pLD	pLD	$18,4^{a}$±3,3	$1,5^{c}$±0,5	$86,9^{bc}$±12,4
F. velutipes	pLD	$128,1^{a}$±19,8	$11,6^{a}$±2,1	$12,2^{b}$±1,62	pLD	pLD	$16,7^{a}$±3,7	pLD	$3,3^{bc}$±0,7	$171,9^{a}$±26,7
G. frondosa	pLD	pLD	$3,4^{c}$±0,9	$6,6^{c}$±1,2	pLD	pLD	$11,2^{b}$±1,8	$7,5^{b}$±0,6	$1,1^{c}$±0,2	$29,8^{d}$±2,9
P. ostreatus	$19,5^{b}$±5,2	$57,6^{b}$±8,5	pLD	pLD	pLD	pLD	pLD	pLD	$9,5^{a}$±2,7	$86,6^{bc}$±14,6
Pleurotus sp.	$23,6^{b}$±3,0	$26,1^{c}$±5,8	pLD	pLD	pLD	$8,1^{a}$±2,0	pLD	pLD	$5,7^{b}$±0,6	$63,5^{c}$±9,6
P. squamosus	pLD	pLD	$6,7^{b}$±1,0	$33,0^{a}$±3,3	pLD	pLD	$3,4^{c}$±0,5	$10,5^{b}$±2,0	$0,5^{c}$±0,1	$54,1^{cd}$±4,5
Walsch t-test	1,03	0,04	1,67	1,1	-2,42	0,16	1,14	-2,34	1,45	

Średnie wartości (n = 3) ± odchylenie standardowe; identyczne indeksy górne (a, b, c...) nie oznaczają żadnej znaczącej ($p < 0,085$ dla grzybów rosnących na glebie, $p < 0,05$ dla grzybów rosnących na drewnie) różnicy między wartościami średnimi w kolumnie zgodnie z testem Tukey'a HDS (ANOVA). Test t próbny (Walsch t-test) $p < 0,05$*
pLD – poniżej limitu detekcji

Prezentowane przeze mnie wyniki stanowią istotną informację dotyczącą zawartości w grzybach kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, ponieważ za wyjątkiem *M. procera, C. cibarius, L. amethystina, A. mellea*, *P. ostreatus* oraz *F. velutipes*, brak podobnych, dostępnych doniesień literaturowych, w tematyce kwasów i ich korelacji z pierwiastkami śladowymi obecnymi w podłożu. Dlatego też w celu wykazania istotności powyższej zależności, wykonałam analizę głównych składowych (PCA). Analiza ta wykonana została dla obu grup grzybów (Rysunek 3). Dla grzybów rosnących na glebie (Rysunek 3a) analiza PCA wykazała 50,89% (20,19+30,70) zmienności. Dla tej grupy grzybów stwierdziłam zależności pomiędzy: *M. procera* i *L. gilva* w relacji do As, Ag, Cd, Cu, Pb oraz Se, z jednoczesną istotną dodatnią korelacją względem zawartości kwasów: jabłkowego, mrówkowego, szczawiowego oraz cytrynowego; *S. luteus* względem zawartości Al, Ba, Cr, Li, In oraz Sr z kwasami fumarowym i octowym, a dla *S. bovinus* i *T. equestre* wskazałam korelację z Ga, Fe i Zn, a kwasami malonowym i bursztynowym.

Dla grzybów rosnących na drzewie (Rysunek 3b) wykazałam 57,86% (24,65+33,21) zmienności. Mleczek i wsp. (2016) stwierdzili, że spośród tej grupy grzybów, gatunek *G. frondosa* charakteryzował się najwyższą zawartością Ag, Al, Cd i Fe, podczas gdy *A. mellea* zawierał znaczące ilości Al. Dla tych gatunków grzybów analiza PCA wskazała istotną dodatnią korelację z kwasem octowym, z jednoczesną niską zawartością kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w owocnikach badanych gatunków. Dodatkowo wykazałam, że oznaczona istotna zawartość Zn w owocniku *P. ostreatus* była istotnie skorelowana z zawartością kwasu szczawiowego (jego zawartość była jedną z najwyższych pośród gatunków rosnących na drzewie) oraz z sumą wszystkich oznaczanych kwasów. Wyniki moich badań **mają istotne znaczenie, ponieważ zdolność do akumulowania poszczególnych pierwiastków była zróżnicowana dla badanych owocników grzybów**, **z jednoczesną istotną zmiennością w obrębie zawartości i profilu kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej**, względem analizowanych pierwiastków.



Rysunek 3. Analiza głównych składowych (PCA) dla grzybów rosnących na glebie (3a) oraz na drzewie (3b)

Grzyby, podobnie jak rośliny, rozwinęły wewnętrzny mechanizm obronny przed różnymi rodzajami stresu, m.in. poprzez wytwarzanie bioaktywnych cząsteczek, takich jak kwasy fenolowe, kwasy organiczne i tokoferole. W przypadku kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej stanowiących główny przedmiot prezentowanego osiągnięcia

naukowego **wykazałam, że szczególnie kwasy: szczawiowy oraz cytrynowy, wykazują zdolność kompleksowania jonów metali, mogą odgrywać istotną rolę jako biochemiczny mechanizm obronny w detoksykacji zwłaszcza toksycznych pierwiastków śladowych**. Ich aktywność leży w zakresie zewnątrzkomórkowym (zmniejszanie wychwytu oraz transportu metalu od korzeni do nadziemnych części owocnika na drodze chelatowania z wydzielanymi przez mikoryzę kwasami), jak i wewnątrzkomórkowym (w oparciu o reakcję kompleksowania metali kwasowymi ligandami, a następnie zmagazynowanie utworzonych kompleksów w wakuoli). Może to sugerować, że zwiększone wytwarzanie kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej m.in. kwasu cytrynowego, może stanowić jedną z odpowiedzi homeostatycznej komórek względem czynników środowiskowych.

Wnioski ww. przeprowadzonych prac badawczych dotyczących wybranych gatunków grzybów dzikorosnących

Wykazałam, że:

- warunki środowiskowe (obecność podwyższonych stężeń metali w podłożu), jak i gatunek badanych owocników miał istotny wpływ na zawartość oraz profil kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej;
- dla *B. badius* wykazałam wzrost stężenia kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w owocnikach rosnących na terenie zanieczyszczonym metalami, w porównaniu z owocnikami zebranymi z terenów, gdzie zawartość metali była zdecydowanie niższa;
- istotny wzrost stężenia kwasu cytrynowego w owocnikach z terenów zanieczyszczonych, może wskazywać na jego zaangażowanie w procesie chelatacji obecnych w podłożu pierwiastków oraz udział w utrzymaniu równowagi w komórkach podgrzybka;
- ilość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej oraz zawartość pierwiastków w owocnikach gatunków rosnących na drzewie była generalnie niższa w porównaniu z gatunkami rosnącymi na glebie.

Główne osiągnięcia przeprowadzonych prac badawczych

- profil oraz ilość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, uwarunkowane były rodzajem badanej rośliny drzewiastej oraz gatunków owocników grzybów;
- zarówno w drzewach, jak i w owocnikach grzybów udział poszczególnych kwasów był ściśle skorelowany z rodzajem metalu obecnego w podłożu;
- zwiększenie stężenia wydzielanych kwasów w ryzosferze oraz tworzenie ich w korzeniach i liściach wierzb, jak i owocnikach grzybów wskazuje na prawdopodobną rolę w chelatację metali, jako jeden z istotnych mechanizmów detoksykacji.

Przeprowadzone przeze mnie badania i przedstawione jako najważniejsze osiągnięcie naukowe mają charakter czysto poznawczy. Ponadto przedstwione przeze mnie wyniki posiadają charakter aplikacyjny, gdyż rola kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, zwłaszcza w detoksykacji pierwiastków śladowych, daje ogromną szansę na zastosowanie różnych komponentów środowiska (roślin, grzybów) w programach remediacyjnych. Prezentowane prace są również pierwszymi podejmującymi tematykę łączącą kwasy organiczne o niskiej masie cząsteczkowej oraz metale w podłożu. Po raz pierwszy również, w tak kompleksowy sposób wskazują na ich korelację z metalami. Jednocześnie wykazana przeze mnie korelacja jest również uwarunkowana rodzajem badanych roślin drzewiastych/krzewów i grzybów oraz ich indywidualnej zdolności do ekstrakcji metali z podłoża oraz charakteru metalu.

5. POZOSTAŁE FORMY AKTYWNOŚCI NAUKOWO-BADAWCZEJ

Inspiracją do prowadzenia badań naukowych był dla mnie ostatni rok studiów na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, na kierunku Chemia, specjalność Chemia Ogólna i Analityczna. W tym czasie, pod opieką prof. dra hab. Jacka Nawrockiego oraz dra hab. Przemysława Andrzejewskiego (wówczas doktor), zaczęłam zgłębiać zagadnienia dotyczące analizy amin pierwszo- i drugorzędowych w wodach gruntowych, ich form występowania oraz roli jaką odgrywają one w środowisku wodnym. Zapoznałam się wówczas z technikami pracy oraz opanowałam obsługę nowoczesnych chromatografów, zarówno gazowych, jak i cieczowych. Opracowałam również wiele metod analitycznych stosowanych do oznaczania amin, wykorzystywanych następnie w pracy magisterskiej.

Zdobyte umiejętności oraz wiedza w zakresie chemii analitycznej, pozwoliły mi następnie na zaangażowanie się w działalność naukową w Katedrze Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu (wówczas Akademii Rolniczej w Poznaniu).

W 2007 roku stałam się uczestnikiem studium doktoranckiego w Katedrze Chemii i pod opieką prof. dra hab. Piotra Golińskiego realizowałam pracę doktorską pt. „Rola wybranych kwasów organicznych oraz makroelementów obecnych w ryzosferze w akumulacji metali ciężkich przez wierzbę wiciową *Salix viminalis* L.". W roku 2011 pracę tę ukończyłam i obroniłam uzyskując stopień naukowy doktora nauk leśnych w dyscyplinie drzewnictwo, nadany mocą uchwały Rady Wydziału Technologii Drewna Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Publiczna obrona mojej dysertacji doktorskiej odbyła się dnia 29 października 2011 roku.

W trakcie studiów doktoranckich byłam wykonawcą w projekcie badawczym „Fizjologiczne podstawy udziału jonów wapnia i magnezu w remediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi, z wykorzystaniem *Salix viminalis*" (kierownik projektu N N310 3218 33: prof. dr hab. Monika Kozłowska (2008-2010)). Uczestnictwo w tym projekcie pozwoliło mi na rozpoczęcie badań w tematyce roli kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze roślin drzewiastych i krzewów. Efektem prowadzonych wówczas badań były prace opublikowane w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym (Załącznik 5, pkt II, poz. B.1.13 i B.1.15), w których jednoznacznie stwierdzono, że zarówno forma pierwiastka, jak i jego stężenie determinują odpowiedź rośliny, wpływając zarazem na tworzenie i wydzielanie do przestrzeni przykorzeniowej kwasów organicznych o niskich masach cząsteczkowych. W prezentowanych pracach wykazałam, że wzrost stężenia metalu w pożywce skutkuje wzrostem ilości wydzielanych kwasów o niskiej masie cząsteczkowej do ryzosfery i zwiększeniem fitoekstrakcji Cu i Ni przez wierzbę. Testowany klon wierzby, pomimo wzrostu stężenia Cu lub Zn w organach nadziemnych, nie wykazywał jakichkolwiek zmian nekrotycznych podczas prowadzonego doświadczenia, co dowodzi, że zintensyfikowanie wydzielania kwasów organicznych może stanowić element mechanizmu obronnego wierzby na zadane stężenia badanych metali.

W ramach ww. projektu wykazałam również, że istotny wpływ na zawartość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze, ma również wzajemny stosunek jonów wapnia (Ca) do magnezu (Mg). Badania te zostały następnie przedstawione w czasopismach naukowych: Ecotoxicology and Environmental Safety oraz Trees - Structure and Function (Załącznik 5, pkt II, poz.A.1.1 i B.1.12). W pracy Magdziak i wsp. (2011) (Załącznik 5, pkt II,

poz. A.1.1), wykazałam istotne zróżnicowanie pomiędzy składem, jak i ilością wybranych kwasów w ryzosferze *Salix viminalis* L., gdzie nadrzędny wpływ wywierał charakter metalu występującego w podwyższonym stężeniu w pożywce oraz wzajemny stosunek jonów Ca/Mg. Dla kombinacji o fizjologicznym stosunku jonów Ca/Mg (4:1), oznaczyłam wyższą zawartość kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze względem układu gdzie stosunek Ca/Mg wynosił 1:10. Dla układów o podwyższonej zawartości miedzi oraz kadmu, łączna zawartość kwasów organicznych wydzielonych przy fizjologicznym stosunku Ca/Mg była dwukrotnie wyższa, niż dla tych samych układów przy stosunku Ca/Mg 1:10. Wpływ dodawanych do pożywki metali na ilość wydzielonych kwasów w zależności od ich charakteru, jak i stosunku Ca do Mg potwierdziła również praca Magdziak i wsp. (2013) (Załącznik 5, pkt II, poz. B.1.12). W tej pracy wyniki wskazały, że stosunek wapnia do magnezu ma zasadniczy wpływ na ilość wydzielanych kwasów organicznych i maleje w następującym szeregu 20:1 > 4:1 > 1:10 > 1:1/4.

Od roku 2011 jestem zatrudniona na etacie adiunkta w Katedrze Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Do chwili obecnej kontynuuję badania dotyczące identyfikacji oraz analizy ilościowej kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w ryzosferze, w zależności od warunków środowiskowych. Wyniki badań przeze mnie dotąd uzyskane nad stężeniem oraz profilem kwasów organicznych skłoniły mnie do poszerzenia dotychczasowgo zakresu badań o aspekt związany z profilem i zawartością kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w korzeniach i liściach roślin drzewiastych oraz krzewów. Rozpoczęłam poszukiwanie metod analitycznych umożliwiających analizę kwasów organicznych w kolejnych matrycach jak korzenie i liście. Poszerzenie badań wymagało ode mnie poznania i opanowania prawidłowych technik ekstrakcji i oczyszczania próbek roślinnych, jak również uzupełnienia metody analitycznej do oznaczania kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej.

Ponadto, zaangażowałam się w liczne projekty, także nie będąc ich wykonawcą, czego przykładem jest realizowany w latach 2011-2013 projekt badawczy zatytułowany „Uprawy odmian wierzby na nieużytkach oraz na terenach zdegradowanych i chemicznie zanieczyszczonych, celem efektywnego pozyskania biomasy, surowca budowlanego i energetycznego oraz fitoremediacji środowiska" (kierownik projektu NR12 0065 10: prof. dr hab. Piotr Goliński). Dzięki znaczącemu zaangażowaniu podczas realizacji zadań określonych harmonogramem tego projektu, uzyskałam dostęp do jednej z największej kolekcji wierzb na świecie. W projekcie tym jednoznacznie wskazano na istnienie istotnych różnic w sposobie

transportu i zdolności do akumulacji Cu, Pb i Zn przez badane klony wierzby. Wyniki te, zwłaszcza dotyczące akumulacji ww. metali, stały się punktem wyjściowym do pracy nad wyselekcjonowaniem najlepszych klonów wierzb pod względem efektywności fitoekstrakcji oraz charakteryzujących się najwyższą biomasą na terenach silnie wzbogaconych o te metale. Wyselekcjonowane klony wierzb zostały następnie włączone w cykl doświadczeń dotyczących już bezpośrednio mojego nurtu badań pod względem wydzielania do ryzosfery oraz tworzenia kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej w korzeniu i liściach na dwóch skrajnych pod względem zanieczyszczenia obszarach Polski.

Dodatkowo, jeden z klonów *S ×rubens* (*S. purpurea* × *triandra* × *viminalis*) okazał się jednym z najbardziej obiecujących z punktu fitoekstrakcji Zn i który został objęty cyklem doświadczeń hydroponicznych. Jako jeden z badanych parametrów były kwasy organiczne o niskiej masie cząsteczkowej, których analizę profilu oraz ilości wykonałam. Uzyskane wyniki dotyczące kwasów organicznych włączone zostały do cyklu publikacji jako osiągnięcie naukowe w mojej rozprawie habilitacyjnej (Załącznik 5, pkt I), jak również powstała dodatkowa praca, której jestem współautorem (Załącznik 5, pkt II, poz. B.1.7).

Istotnym elementem mojej pracy naukowej, był udział w projekcie badawczym kierowanym przez dra hab. Mirosława Mleczka (wówczas doktora) zatytułowanego „Bioakumulacja metali ciężkich przez grzyby jadalne miarą zanieczyszczenia środowiska", finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki w latach 2010-2013 (N N305 372538), jako współwykonawca. W projekcie uczestniczyłam w badaniach dotyczących analizy składu pierwiastkowego grzybów dziko rosnących na terenie Polski (Załącznik 5, pkt II, poz. B.1.11, B.2.1 oraz B.2.2). Materiał badawczy w tym projekcie stanowiło ponad 30 gatunków grzybów, które były materiałem gromadzonym przez 40 lat (materiał archiwalny suszu), jak i zbierane na bieżąco owocniki grzybów w trakcie trwania projektu. Były to gatunki grzybów rosnące na glebie i na drzewach oraz owocniki zebrane z terenów uznanych za ekologicznie czyste, jak i silnie zanieczyszczonych (Załącznik 5, pkt II, poz. B.1.5 i B.1.6). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że grzyby posiadają zdolność do pobierania znacznych ilości pierwiastków śladowych, w określony, charakterystyczny dla siebie sposób. Akumulacja tych pierwiastków jest zdecydowanie większa niż ta, jaką wykazują rośliny drzewiaste i krzewy, a ponadto odbywa się nieco w odmienny sposób. Określone gatunki grzybów zdolne są do akumulacji wybranych pierwiastków śladowych, jak na przykład maślak zwyczajny - *Suillus luteus* (Al, Ba, Co, Cr, Li, Ni) (Załącznik 5, pkt II, poz. B.1.6). Uzyskane wyniki ponownie stały się podstawą do

rozszerzenia badań w zakresie oznaczanych kwasów, jak i opanowania ekstrakcji i oczyszczania kolejnej matrycy. Prowadzona przeze mnie tematyka badawcza kwasów o niskiej masie cząsteczkowej w owocnikach różnych gatunków grzybów dała początek współpracy z zespołem prof. Pavela Kalača z Uniwersytetu Południowoczeskiego w Czeskich Budziejowicach, a efekty zostały przedstawione jako część osiągnięcia naukowego prezentowanej przez mnie rozprawy habilitacyjnej.

Grzyby stanowią bardzo ciekawą matrycę pod względem zawartości kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej. Niemniej jednak, najnowsza literatura światowa zaczyna wskazywać na obecność tych związków, jako molekuł mających istotne znaczenia w procesach antyoksydacyjnych. W związku z nowym spojrzeniem na zagadnienie dotyczące kwasów organicznych, rozpoczęłam badania nad ich zawartością w grzybach z jednoczesnym uwzględnieniem właściwości antyoksydacyjnych, niezależnie już od obecności w owocnikach pierwiastków śladowych. W tym zakresie ukazała się już jedna z prac (Załącznik 5, pkt II, poz. B.1.3), w której stwierdzono, że zarówno profil, jak i zawartość kwasów organicznych w owocnikach istotnie zależą od badanego gatunku grzyba. Ponadto, obecność takich kwasów jak szczawiowy, jabłkowy, cytrynowy czy fumarowy jednoznacznie wskazuje na ich ważną funkcję w owocniku, gdyż np. kwas szczawiowy wykazuje aktywność antybakteryją (Kwak i wsp. 2016), natomiast kwas fumarowy posiada udowodnione właściwości przeciwzapalne, neuroprotekcyjne i przeciwbakteryjne (Baati i wsp. 2011). Z kolei kwas jabłkowy jest odpowiedzialny za smak, a kwas cytrynowy posiada właściwości przeciwutleniające i antybakteryjne, co może wydłużyć okres przechowywania grzybów i zapobiegać ich brązowieniu (Baros i wsp. 2013). Jednocześnie kwas cytrynowy jest szeroko stosowany jako środek zakwaszający w przemyśle farmaceutycznym i spożywczym ze względu na jego niską toksyczność (Leal i wsp. 2013). Rozpoczęcie owej tematyki badawczej zapoczątkowało współpracę z Uniwersytetem Medycznym w Poznaniu. Wspólnie prowadzimy badania ekstraktów grzybowych pod względem profilu i zawartości aktywnych biomolekuł organicznych, w tym właśnie badanych przeze mnie kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, jako istotny element procesów antyoksydacyjnych czy też antybakteryjnych. Jest to nowy aspekt moich badań, który pragnę rozwijać i kontynuować.

Równolegle kontynuuję swoje badania w zakresie zanieczyszczenia środowiska pierwiastkami śladowymi, metalami ciężkimi/metaloidami, czego dowodem jest mój udział w projekcie badawczym 2014/15/B/NZ9/02172 zatytułowanym „Potencjał fitoremediacyjny

rodzimych gatunków drzew i krzewów rosnących na ekstremalnie zanieczyszczonych metalami śladowymi i metaloidami osadach poflotacyjnych" (kierownik projektu: prof. dr hab. Piotr Goliński (2015-2018)). W ramach tego projektu jestem głównym wykonawcą i razem z zespołem wykonujemy doświadczenia (zarówno polowe i modelowe), a uzyskane wyniki badań dotyczą oceny fotoremediacyjnego potencjału drzew rodzimych, odpowiedzi rośliny na zadany stres wynikający z obecności Cu, Pb i Zn oraz ocenie wpływu różnych form i stężeń arsenu (Załącznik 5, pkt II, poz. B.1.1 i B.1.2). Interdyscyplinarny charakter grantu przyczynił się do współpracy z Wydziałem Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

W czasie mojej pracy naukowej staram intensywnie się nawiązywać współpracę w nowych obszarach badawczych, poszerzać rozpoczęte w trakcie realizacji pracy doktorskiej, jak i projektach zagadnienia kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej. Pozwala mi to na realizację głównych kierunków badań związanych z:

- wskazaniem istotności roli kwasów organicznych, jako biomolekuł biorących udział w detoksykacji pierwiastków śladowych i metali ciężkich/metaloidów,
- poznaniem profilu wybranych kwasów organicznych w różnych komponentach środowiskach,
- udoskonalaniem techniki analitycznej w zakresie oznaczania profilu, jak i ilości kwasów,
- próbą odpowiedzi na pytanie o ich rzeczywistą rolę w fitoekstrakcji pierwiastków śladowych oraz metali ciężkich/metaloidów.

Uzyskane dotychczas wyniki są przede wszystkim przedstawiane jako oryginalne prace twórcze w renomowanych czasopismach z listy A wykazu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, jak również na konferencjach krajowych i międzynarodowych oraz seminariach w formie wystąpień i/lub sesji posterowych.

Mój łączny dorobek naukowy, wliczając prace składające się na osiągnięcie naukowe obejmuje 29 publikacji z listy A, 3 publikacje z listy B (Załącznik 5, pkt I i II), jestem współautorem 3 rozdziałów w monografiach anglojęzycznych opublikowanych w latach 2013-2015 przez wydawnictwa: Springer oraz Nova Science Publishers, których tematyka odzwierciedla realizowane przez mnie prace badawcze (Załącznik 5, pkt II, poz. B.3), a także 21 pozycji składających się na prace konferencyjne prezentowane w formie wystąpień i prezentacji posterowych (Załącznik 5, pkt III.A oraz III.B) na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Wykonałam również szereg recenzji dla czasopism międzynarodowych (Załącznik 5, pkt IV).

6. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA

Wraz z początkiem mojego zatrudnienia, każdego roku realizuję pensum dydaktyczne wraz z godzinami nadliczbowymi, pracując ze studentami studiującymi w trybie stacjonarnym, jak i niestacjonarnym. Prowadziłam ćwiczenia laboratoryjne na następujących kierunkach studiów: Ogrodnictwo, Technika Rolnicza i Leśna, Ochrona Środowiska, Weterynaria oraz Technologia Żywności i Żywienia Człowieka. Obecnie realizuję ćwiczenia laboratoryjne na następujących kierunkach studiów: Biotechnologia (studia stacjonarne) oraz Technologia Drewna (studia niestacjonarne). Od trzech lat prowadzę również kursy wyrównawcze dla studentów pierwszego roku naszego Uniwersytetu w wymiarze 20 - 40 godzin.

W roku 2016 i 2017 za zgodą Rady Wydziału Technologii Drewna, przeprowadziłam część wykładów z przedmiotu „Chemia ogólna i organiczna" dla studentów stacjonarnych kierunku Biotechnologia.

Poza działalnością dydaktyczną na rzecz studentów Uniwersytetu, w ramach projektów realizowanych przez Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu i współfinansowanych przez Unię Europejską od wielu lat prowadzę zajęcia dla uczniów szkół podstawowych i gimnazjalnych, w języku polskim, jak i angielskim. Od roku 2012 do dziś jestem organizatorem i uczestnikiem „Międzynarodowej Nocy Naukowców" oraz „Festiwalu Nauki" (Załącznik 5, pkt V).

7. INNE FORMY DZIAŁALNOŚCI

Od roku 2017 jestem członkiem Rektorskiej Komisji Likwidacyjnej ds. Aparatury oraz Zespołu ds. Jakości Kształcenia na kierunku studiów Inżynieria biotworzyw, na kadencję 2017-2021.

Od roku 2018 pełnię funkcję kierownika Zakładu Chemii Organicznej i Bioorganicznej oraz jestem członkiem Rady Katedry Chemii.

Szczegółowy wykaz osiągnięć naukowo-dydaktycznych i organizacyjnych przedstawiłam w załączniku nr 5.

Literatura:

Adeleke R, Nwangburuka C, Oboirien B. (2017) Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. South African Journal of Botany 108:393–406.

Ash Ch, Tejnecký V, Borůvka L, Drábek O. (2016) Different low-molecular-mass organic acids specifically control leaching of arsenic and lead from contaminated soil. Journal of Contaminant Hydrology 187:18–30.

Baati T, Horcajada P, Gref R, Couvreur P, Serre C. (2011) Quantification of fumaric acid in liver, spleen and urine by high-performance liquid chromatography coupled to photodiode-array detection. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 56(4):758–762.

Bao T, Sun T, Sun L. (2011) Low molecular weight organic acids in root exudates and cadmium accumulation in cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrium* L. and non-hyperaccumulator Solanum lycopersicum. African Journal of Biotechnology 10:17180–17185.

Barros L, Pereira C, Ferreira ICFR. (2013) Optimized analysis of organic acids in edible mushrooms from Portugal by ultra fast liquid chromatography and photodiode array detection. Food Analytical Methods 6(1):309–316.

Bergqvist C, Herbert R, Persson I, Greger M. (2014) Plants influence on arsenic availability and speciation in the rhizosphere, roots and shoots of three different vegetables. Environmental Pollution184:540-546.

Carvajal AESS, Koehnlein EA, Soares AA, Eler GJ, Nakashima ATA, Bracht A, Peralta RM. (2012) Bioactives of fruiting bodies and submerged culture mycelia of *Agaricus brasiliensis* (*A. blazei*) and their antioxidant properties. LWT – LWT- Food Science and Technology 46(2):493–499.

Dresler S, Bednarek W, Wójcik M. (2014a) Effect of cadmium on selected physiological and morphological parameters in metallicolous and non-metallicolous populations of *Echium vulgare* L. Ecotoxicology and Environmental Safety 104:332–338.

Dresler S, Hanaka A, Bednarek W, Maksymiec W. (2014b) Accumulation of low-molecular-weight organic acids in roots and leaf segments of *Zea mays* plants treated with cadmium and copper. Acta Physiologiae Plantarum 36(6):1565–1575.

Haoliang L, Chongling Y, Jingchun L. (2007) Low-molecular-weight organic acids exuded by Mangrove (*Kandelia candel* (L.) Druce) roots and their effect on cadmium species change in the rhizosphere. Environmental and Experimental Botany 61:159–166

Hinsinger P, Gobran GR, Gregory PJ, Wenzel WW. (2005) Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. New Phytologist 168(2):293–303.

Kwak AM, Lee IK, Lee SY, Yun BS, Kang HW. (2016) Oxalic acid from *Lentinula edodes* culture filtrate: antimicrobial activ- ity on phytopathogenic bacteria and qualitative and quantitative analyses. Mycobiology 44(4):338–342.

Leal AR, Barros L, Barreira Sousa MJ, Martins A, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. (2013) Portuguese wild mushrooms at the "pharma-nutrition" interface: nutritional characterization and antioxidant properties. Food Research International 50:1–9.

Lee J, Reeves RD, Brooks RP, Jaffre T. (1977) Isolation and identification of a citrate-complex of nickel from nickel-accumulating plants. Phytochemistry 16(10):1502–1505.

Liao M, Xie XM. (2004) Cadmium release in contaminated soils due to organic acids. Pedosphere 14(2):223–228.

Mleczek M, Niedzielski P, Kalač P, Budka A, Siwulski M, Gąsecka M, Rzymski P, Magdziak Z, Sobieralski K. (2016) Multielemental analysis of 20 mushroom species growing near a heavily trafficked road in Poland. Environmental Science and Pollution Research 23(16):16280-16295.

Mucha AP, Almeida CMR, Bordalo AA, Vasconcelos MTSD (2010) LMWOA (low molecular weight organic acid) exudation by salt marsh plants: Natural variation and response to Cu contamination Estuarine. Estuarine, Coastal and Shelf Science 88(1): 63–70.

Renella G, Landi L, Nannipieri P. (2004) Degradation of low molecular weight organic acids complexed with heavy metals in soil. Geoderma 122(2-4):311–315.

Ribeiro B, Lopes R, Andrade PB, Seabra RM, Gonçalves RF, Baptista P, Quelhas I, Valentão P. (2008a) Comparative study of phyto-chemicals and antioxidant potential of wild edible mushroom caps and stipes. Food Chemistry 110(1):47–56.

Ribeiro B, Andrade PB, Baptista P, Barros L, Ferreira ICFR, Seabra RM, Valentão P. (2008b) *Leucopaxillus giganteus* mycelium: effect of nitrogen source on organic acids and alkaloids. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(12):4769–4774.

Ribeiro B, Rangel J, Valentão P, Baptista P, Seabra RM, Andrade PB. (2006) Contents of carboxylic acids and two phenolics and antioxidant activity of dried Portuguese wild edible mushrooms. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54(22):8530–8537.

Valentão P, Lopes G, Valente M, Barbosa P, Andrade PB, Silva BM, Baptista P, Seabra RM. (2005) Quantification of nine organic acids in wild mushrooms. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53(9):3626–3630.

Valentinuzzi F, Cesco S, Tomasi N, Mimmo T. (2016) Effect of aluminium exposure on the release of organic acids and genistein from the roots of *Lupinus albus* L. plants. Rhizosphere 1:29–32.

Xie X, Weiss DJ, Weng B, Liu J, Lu H, Yan Ch. (2013) The short-term effect of cadmium on low molecular weight organic acid and amino acid exudation from mangrove (*Kandelia obovata* (S., L.) Yong) roots. Environmental Science and Pollution Research 20:997–1008.

Xin J, Huang B, Dai H, Zhou W, Yi Y, Peng L. (2015) Roles of rhizosphere and root-derived organic acids in Cd accumulation by two hot pepper cultivars. Environmental Science and Pollution Research 22:6254–6261.

Szczegółowy wykaz publikacji

Jestem współautorem 29 publikacjach naukowych (w tym 26 z listy A), 3 rozdziałów w monografiach naukowych oraz 21 materiałów konferencyjnych. Pięć prac stanowi oceniane osiągnięcie naukowe (IF = 8,518; 120 pkt. MNiSW). Całkowity sumaryczny IF opublikowanych prac wynosi 49,6; co stanowi 721 pkt MNiSW.

Tabelaryczny wykaz publikacji podsumowujący dorobek publikacyjny
przed uzyskaniem stopnia doktora

Nazwa czasopisma	Rok wydania	Liczba publikacji	Liczba punktów	Sumaryczna liczba punktów	Impact Factor*	Sumaryczny Impact Factor*
Czasopisma z listy A						
Ecotoxicology	2011	1	30	30	2,355	2,355
Ecotoxicology and Environmental Safety	2011	1	30	30	2,294	2,294
Journal of Environmental Science and Health, Part A	2010	2	20	40	1,107	2,214
	2009	1	20	20	1,363	1,363
Czasopisma z listy B						
Ars Separatoria Acta	2011	1	4	4	-	-
Łącznie**	**-**	**6**	**-**	**124**	**-**	**8,226**

*** - zgodnie z rokiem wydania pracy**

po uzyskaniu stopnia doktora

Nazwa czasopisma	Rok wydania	Liczba publikacji	Liczba punktów	Sumaryczna liczba punktów	Impact Factor	Sumaryczny Impact Factor*
Czasopisma z listy A						
Acta Physiologiae Plantarum	2015	1	25	25	1,563	1,563
	2014	1	25	25	1,584	1,584
	2013	1	25	25	1,524	1,524
Environmental Science and Pollution Research	2017	1	30	30	2,741	2,741
	2016	1	30	30	2,741	2,741
European Food Research and Technology	2017	1	25	25	1,664	1,664
Food Chemistry	2013	1	40	40	3,259	3,259
International Journal of Phytoremediation	2012	1	30	30	1,179	1,179
Journal of Environmental Science and Health Part A	2012	1	20	20	1,107	1,107
Journal of Environmental Science and Health Part B	2017	1	20	20	1,362	1,362
	2013	1	20	20	1,234	1,234
Journal of Hazardous Materials	2012	1	45	45	3,925	3,925
Journal of Plant Physiology	2018	1	35	35	3,121	3,121
	2017	1	35	35	3,121	3,121
Photosynthetica	2012	1	25	25	0,862	0,862
Trees - Structure and Function	2013	1	35	35	1,869	1,869

cd.

Czasopisma z listy B						
Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria	2013	2	6	12	-	-
Łącznie	**-**	**18**	**-**	**477**	**-**	**32,856**

*** - zgodnie z rokiem wydania pracy**

dotyczący najważniejszego osiągnięcia naukowego

Nazwa czasopisma	Rok wydania	Liczba publikacji	Liczba punktów	Sumaryczna liczba punktów	Impact Factor*	Sumaryczny Impact Factor*
Czasopisma z listy A						
Acta Physiologiae Plantarum	2017	1	25	25	1,364	1,364
Chemistry and Ecology	2015	1	20	20	1,281	1,281
Environmental Science and Pollution Research	2016	1	30	30	2,741	2,741
International Journal of Phytoremediation	2017	1	25	25	1,77	1,77
Journal of Environmental Science and Health Part B	2017	1	20	20	1,362	1,362
Łącznie*	**-**	**5**	**-**	**120**	**-**	**8,518**

*** - zgodnie z rokiem wydania pracy**

Zestawienie liczbowe osiągnięć w pracy naukowo-badawczej

Rodzaj publikacji/aktywności	Przed uzyskaniem stopnia doktora			Po uzyskaniu stopnia doktora		
	Ilość	IF	Punkty MNiSW	Ilość	IF	Punkty MNiSW
Oryginalne prace twórcze	6	8,226	124	24	41,374	597
Monografie; rozdziały w monografiach i książkach naukowych	-	-	-	3	-	15
Artykuły popularno - naukowe	-	-	-	-	-	-
Referaty naukowe wygłoszone na konferencjach	3	-	-	-	-	-
Postery prezentowane na konferencjach	10	-	-	8	-	-
Łącznie	19	**8,226**	**124**	35	**41,374**	**597**
- w tym wykorzystane w rozprawie habilitacyjnej	0	0	0	**6**	**8,518**	**120**
Łączna liczba cytowań*	20			183		
Łączna liczba cytowań**	5			210		
Liczba cytowań bez autocytowań*	20			144		
Liczba cytowań bez autocytowań**	4			160		
Indeks H	3*/3**			8*/8**		

* - zgodnie z bazą Web of Science

** - zgodnie z bazą SCOPUS

Zuzanna Magdziak