

Warszawa, 06.12.2020 r.

mgr inż. Wanda Cegiełkowska

Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych UW, Analityczne Centrum Eksperymentalne  
Pracownia Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej, Wydział Chemii UW

Pracownia Ekotoksykologii, Wydział Biologii UW

Międzywydziałowe Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie w zakresie nauk Matematyczno-Przyrodniczych

Autoreferat rozprawy doktorskiej pt.:

**„Opracowanie metodyki analitycznej badania rozmieszczenia cynku  
w roślinach *Plantago lanceolata* L.”**

Promotorzy:

prof. dr hab. Ewa Bulska, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski  
prof. dr hab. Małgorzata Wierzbicka, Wydział Biologii Uniwersytet Warszawski

Współczesne możliwości badawcze pozwalają na realizowanie badań interdyscyplinarnych, na styku dowolnych dziedzin, m.in. biologii eksperymentalnej i nowoczesnej chemii analitycznej. Przedstawione w niniejszej pracy badania gatunku *Plantago lanceolata* L. wpisują się nie tylko w popularne i aktualne poszukiwania roślin przydatnych w procesach fitoremediacji, ale miały także za zadanie odpowiedzieć na pytanie o różnice między populacjami w zależności od charakterystyki miejsca pochodzenia nasion oraz pozwoliły na porównanie metod z pogranicza biologii i chemii w opisie rozmieszczenia metali w tkankach roślinnych.

Zamierzeniem niniejszej pracy była realizacja dwóch równorzędnych celów:

1. Sprawdzenie hipotezy biologicznej o zwiększonej tolerancji na cynk roślin populacji łąkowej *Plantago lanceolata* L.
2. Badanie rozmieszczenia metali (na przykładzie cynku) w tkankach roślinnych, na różnych poziomach organizacji: od poziomu subkomórkowego po organy roślin, z zastosowaniem najnowszych technik chemii analitycznej i mikroskopii.

Podczas realizacji pracy doktorskiej porównano tolerancję na cynk dwóch populacji *P. lanceolata*: populacji łąkowej, pochodzącej z terenów starej łąki w Bolestawiu k/Olkusza (woj. Małopolskie) oraz populacji naturalnej, odniesienia, pochodzącej z nieskażonych terenów środkowej Polski.

W ramach badań biologicznych porównano morfologię roślin uprawianych z nasion zebranych na stanowiskach różniących się poziomem cynku w glebie (podłożu, w przypadku łąki) w pierwszym pokoleniu. Porównano tolerancję siewek i roślin dorosłych uprawianych na podłożach wzbogaconych w cynk, stwierdzając istotnie wyższą tolerancję roślin populacji łąkowej, przejawiającą się w osiągniętych

parametrach wzrostowych i biomasy, a także kondycji komórek w obserwacjach mikroskopowych. Zarówno mikroskopia świetlna, konfokalna jak i obserwacja preparatów w mikroskopie elektronowym, w warunkach wzbogacenia pożywki w cynk, potwierdzały lepszą kondycję komórek roślin *P. lanceolata* populacji hałdowej w porównaniu z roślinami populacji odniesienia. Różnica dotyczyła m.in. częstotliwości występowania plazmolizy komórek miękiszu liści pod wpływem czynnika stresowego. W efekcie stwierdzono istotne różnice w reakcji roślin na czynnik stresowy (cynk), uznając rośliny populacji hałdowej za istotnie bardziej tolerancyjne, przy czym obie grupy roślin można było uznać za cynkolubne.

Jednocześnie rośliny *P. lanceolata*, szczególnie populacji hałdowej uprawiane na podłożu wzbogaconym w cynk, okazały się być doskonałym materiałem wyjściowym do badań rozmieszczenia metali w tkankach i komórkach roślin z zastosowaniem technik badawczych z pogranicza biologii eksperymentalnej i chemii analitycznej.

W celu określenia rozmieszczenia cynku w roślinach (na poziomie tkankowym, komórkowym i subkomórkowym) wykorzystano szereg technik mikroskopowych (mikroskopia świetlna - metoda ditizonowa, mikroskopia elektronowa TEM, mikroskopia konfokalna z zastosowaniem barwnika fluorescencyjnego Zinpyr-1) oraz mapowanie metodą LA ICP MS (z zastosowaniem metody wzorca wewnętrznego i materiału odniesienia INCT-MPH-2 oraz NIST-SRM-1515). Badania służyły nie tylko porównaniu odpowiedzi roślin z obu populacji, ale także dopracowaniu metodyk zastosowanych technik do szczególnych wymagań badanej matrycy.

Druga część pracy posłużyła za wspólny materiał do porównania stosowanych mniej lub bardziej powszechnie metod badania rozmieszczenia metali w tkankach roślinnych, uwidaczniając ich zalety i ograniczenia. Najciekawszą częścią pracy było zestawienie otrzymanych różnymi technikami mikroskopowymi i analitycznymi wyników dotyczących rozmieszczenia cynku (i innych wybranych pierwiastków). Z uwagi na różną preparatykę obiektu badań wyniki otrzymane poszczególnymi metodami wymagały indywidualnej interpretacji, uwzględniającej matrycę, analit, czułość metody oraz specyfikę przygotowania preparatu. Dopiero następnie możliwe było wnioskowanie o faktycznym rozmieszczeniu pierwiastków i wyciąganie wniosków dotyczących zachodzących w tkankach biologicznych procesów.

Ponadto, w ramach prowadzonych badań, stwierdziłam celowość zastosowania mapowania metodą LA ICP MS preparatów przeznaczonych do obserwacji i oznaczania pierwiastków z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej TEM z mikroanalizą rentgenowską EDS.

Zaprezentowane w niniejszej pracy wyniki badań wskazują na konieczność posługiwania się w biologicznych projektach badawczych możliwie szerokim wachlarzem dostępnych metod pomiarowych oraz znaczenie odpowiedniego projektowania doświadczeń kontrolnych z uwzględnieniem konsekwencji preparatyki materiału badawczego. Każda z zastosowanych metod niesie ze sobą zestaw danych, których dopełnienie informacjami pochodzącymi z innych źródeł, pozwala na przybliżenie rzeczywistego obrazu badanych obiektów biologicznych.