STRESZCZENIE

W obliczu rosnącego zaniepokojenia wpływem zanieczyszczeń środowiskowych, w tym antybiotyków, na ekosystemy, niniejsza rozprawa doktorska skupia się na badaniach dotyczących wpływu tetracykliny na rośliny oraz ich mikrobiom. Składa się z pięciu publikacji i materiału przeznaczonego do publikacji, które mają na celu zbadanie molekularnych biomarkerów uszkodzeń i regeneracji roślin poddanych działaniu tetracykliny, wpływu tego antybiotyku na aparat fotosyntetyczny, optymalizacji metody izolacji DNA z filosfery roślin, a także analizy składu mikroorganizmów w glebie oraz ryzosferze roślin uprawianych w środowisku zanieczyszczonym.

Zasadniczym celem pracy było poszukiwanie molekularnych biomarkerów uszkodzeń i regeneracji roślin traktowanych tetracykliną. Przegląd literatury ujawnił braki w dotychczasowych badaniach, szczególnie dotyczących wpływu tetracykliny na biosyntezę chlorofilu oraz aktywność enzymów kluczowych dla fotosyntezy. Aby uzupełnić tę lukę, przeprowadzono szereg eksperymentów, w których oceniano wpływ tetracykliny na zawartość chlorofilu w roślinach. Stwierdzono, że traktowanie tetracykliną prowadzi do istotnego spadku stężenia chlorofilu w roślinach, co jednoznacznie wskazuje na toksyczny wpływ tego antybiotyku na aparat fotosyntetyczny.

W ramach dalszych badań zastosowano rzęsę drobną, której wzrost monitorowano przez 7 dni w obecności różnych stężeń tetracykliny (1 mM, 2,5 mM, 10 mM). Wyniki pokazały również wyraźny spadek zawartości chlorofilu, sięgający 64% przy najwyższym stężeniu. Dodatkowo, badania nad grochem wykazały, że nawet niewielkie stężenia tetracykliny w glebie (5 mg/kg) powodują spadek zawartości chlorofilu o 17%, a przy stężeniu 500 mg/kg spadek wynosił 28%. Zidentyfikowane zostały także negatywne skutki działania tetracykliny na szlak biosyntezy chlorofilu, z obniżoną aktywnością kluczowego enzymu – dehydratazy kwasu aminolewulinowego (ALAD). W badaniach na grochu zidentyfikowano również wpływ tetracykliny na karboksylazę/oksygenazę rybulozo 1,5 - bisfosforanu (RuBisCO), kluczowego w procesie fotosyntezy. Wykazano, że tetracyklina zmniejsza zawartość dużej podjednostki RuBisCO oraz jego aktywność, co jest poważnym zagrożeniem dla efektywności fotosyntezy. Zmiany te były istotne w kontekście zarówno stężeń tetracykliny, jak i długości czasu ekspozycji roślin na ten związek.

Kolejnym istotnym aspektem badanym w publikacjach było zjawisko uszkodzeń komórkowych. U rzęsy drobnej wykazano, że akumulacja wolnych rodników wzrasta w odpowiedzi na działanie tetracykliny, co prowadzi do uszkodzeń błon komórkowych i mitochondriów. Wyniki wskazują na wzrost stężenia malondialdehydu (MDA), co jest wskaźnikiem peroksydacji lipidów, oraz na uszkodzenia mitochondrialne, co potwierdzono testem WST-1.

Oprócz badań nad uszkodzeniami, analizowano również zdolności regeneracyjne roślin. Zastosowane wysokie stężenia tetracykliny (1 mM, 2,5 mM, 10 mM) ujawniły, że rośliny były w stanie odzyskać zdolności wzrostowe po usunięciu tetracykliny z pożywki. Analizowane markery, takie jak HSP70 oraz aktywność enzymów antyoksydacyjnych, wykazały, że mechanizmy regeneracyjne były aktywowane w odpowiedzi na stres.

Kolejny kluczowy cel pracy dotyczył optymalizacji metod izolacji DNA z filosfery roślin. Przeanalizowano 50 różnych protokołów, co pozwoliło na zidentyfikowanie

najefektywniejszych parametrów izolacji DNA, takich jak ilość użytego materiału, sposób lizy komórkowej oraz metody zbierania komórek.

bakteryjnych. Wyniki wykazały, że liza mechaniczno-chemiczna w połączeniu z sonikacją i filtracją membranową prowadzi do uzyskania DNA o wysokiej jakości, co jest istotne w badaniach mikrobiomu.

W kontekście analizy składu mikroorganizmów, badania wykazały, że tetracyklina znacząco wpływa na skład mikrobiomu glebowego oraz ryzosfery sałaty. Analiza taksonomiczna przed i po aplikacji tetracykliny ujawniła, że dominującym typem bakterii były Proteobacteria, z obecnością rodzin zdolnych do remediacji gleb. Wyniki wskazują na istotne zmiany w składzie mikroorganizmów w odpowiedzi na obecność tetracykliny, co ma potencjalne implikacje dla jakości gleb i upraw.

Przeprowadzone badania dostarczają istotnych informacji na temat wpływu tetracykliny na rośliny oraz ich mikrobiom. Zidentyfikowane biomarkery uszkodzeń i regeneracji mogą być stosowane do oceny ekotoksyczności środowiskowej oraz potencjału fitoremediacji roślin. Badania nad mikrobiomem i jego odpowiedzią na zanieczyszczenia oferują nowe podejścia do zrozumienia interakcji między roślinami a ich środowiskiem, co może mieć istotne znaczenie dla przyszłych strategii ochrony środowiska i zrównoważonego rozwoju rolnictwa.

Wyniki pracy mają również praktyczne zastosowanie w monitorowaniu zanieczyszczeń w ekosystemach rolniczych, przyczyniając się do rozwoju metod oceny jakości gleb i upraw oraz skutków stosowania antybiotyków w rolnictwie. Dalsze badania mogą skoncentrować się na długoterminowych skutkach działania tetracykliny oraz poszukiwaniu metod minimalizacji jej negatywnego wpływu na ekosystemy.