

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa

ROZPRAWA DOKTORSKA

*Reakcja siewek jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.) na
obecność cieczy jonowych w glebie*

Barbara Pawłowska

Praca doktorska została wykonana pod kierunkiem
dr hab. Roberta Biczaka prof. UJD

Szczecin, 2020

*Składam serdeczne podziękowania Promotorowi
mojej rozprawy doktorskiej
Panu dr hab. Robertowi Biczakowi, prof. UJD
za cenne porady, niegasnącą wiarę w moje możliwości,
nieocenioną pomoc,
anielską cierpliwość i wszelkie wsparcie
udzielone podczas realizacji założeń niniejszej pracy.*

*Pragnę również podziękować
Panu prof. dr hab. inż. Arkadiuszowi Telesińskiemu
za wszechstronną pomoc oraz wszelkie gesty sympatii
podczas realizacji niniejszej pracy.*

*Chciałabym również podziękować Rodzinie i Przyjaciółom
za wyrozumiałość i wsparcie podczas realizacji tej pracy.*

Spis treści

STRESZCZENIE	6
SUMMARY	8
WSTĘP	10
CEL PRACY	12
CZĘŚĆ TEORETYCZNA – PRZEGLĄD LITERATURY	13
1. Ciecze jonowe	14
1.1. Definicja, budowa, historia cieczy jonowych.....	14
1.2. Właściwości i zastosowanie cieczy jonowych.....	15
1.3. Herbicydowe ciecze jonowe oraz regulatory wzrostu roślin.....	17
1.4. Toksyczność cieczy jonowych	18
2. Stres oksydacyjny u roślin	23
2.1. Mechanizm stresu oksydacyjnego u roślin.....	24
2.2. Przyczyny stresu oksydacyjnego u roślin.....	30
CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	38
1. Materiał i metody badań	39
1.1. Charakterystyka materiału roślinnego.....	39
1.2. Metodyka badań.....	40
1.2.1. Ciecze jonowe.....	40
1.2.2. Warunki prowadzenia eksperymentu wazonowego.....	41
1.2.3. Oznaczanie podstawowych parametrów fitotoksyczności.....	43
1.2.3.1. Potencjał kiełkowania nasion i zdolność kiełkowania nasion...43	
1.2.3.2. Inhibicja długości korzeni i części nadziemnych roślin.....43	
1.2.3.3. Inhibicja plonu świeżej masy siewek jęczmienia jarego.....43	
1.2.3.4. Wyznaczanie wartości EC ₅₀43	
1.2.4. Określenie poziomu suchej masy.....	44
1.2.5. Oznaczanie zawartości barwników asymilacyjnych.....	44
1.2.6. Oznaczanie zawartości dialdehydu malonowego.....	44
1.2.7. Oznaczanie zawartości H ₂ O ₂	45
1.2.8. Oznaczanie zawartości wolnej proliny.....	45
1.2.9. Oznaczanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych.....	45
1.2.9.1. Katalaza (CAT).....	45
1.2.9.2. Peroksydaza (POD).....	45

1.2.9.3. Dismutaza ponadtlenkowa (SOD).....	46
1.2.10. Analiza statystyczna.....	46
2. Wyniki badań i dyskusja.....	47
2.1. Fitotoksyczność cieczy jonowych.....	47
2.1.1. Potencjał kiełkowania nasion i zdolność kiełkowania nasion.....	47
2.1.2. Inhibicja długości korzeni i części nadziemnych roślin.....	50
2.1.3. Inhibicja plonu świeżej masy siewek jęczmienia jarego.....	66
2.1.4. Analiza wyliczonych wartości EC ₅₀	69
2.2. Zmiany poziomu suchej masy w siewkach jęczmienia jarego.....	71
2.3. Wpływ badanych cieczy jonowych na zawartość barwników asymilacyjnych w siewkach jęczmienia jarego.....	73
2.4. Oddziaływanie badanych cieczy jonowych na zawartość podstawowych biomarkerów stresu oksydacyjnego w jęczmieniu jarym.....	83
2.4.1. Zmiany zawartości dialdehydu malonowego.....	83
2.4.2. Zmiany zawartości H ₂ O ₂	85
2.4.3. Zmiany zawartości wolnej proliny.....	87
2.5. Wpływ badanych cieczy jonowych na zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych w siewkach jęczmienia jarego.....	89
2.5.1. Zmiany aktywności dysmutazy ponadtlenkowej.....	89
2.5.2. Zmiany aktywności peroksydazy.....	90
2.5.3. Zmiany aktywności katalazy.....	92
2.6. Interakcje pomiędzy badanymi parametrami.....	95
3. Możliwości wykorzystania uzyskanych wyników badań w praktyce.....	102
3.1. Właściwości chwastobójcze badanych ILs	103
WNIOSKI.....	120
LITERATURA.....	121
DOROBEK NAUKOWY.....	139

STRESZCZENIE

Ciecze jonowe to związki chemiczne, które dzięki swoim różnorodnym właściwościom oraz praktycznie nieograniczonym możliwościom syntezy znalazły szerokie zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu w tym i w rolnictwie. Po przedostaniu się do środowiska naturalnego związki te mogą być pobierane przez rośliny i mieć wpływ na ich wzrost i rozwój. Z wyników wieloletnich badań wiadomo, że różnorodne czynniki, takie jak temperatura, światło, zasolenie, patogeny, czy różnego typu zanieczyszczenia gleb, m.in. związkami chemicznymi, mogą niekorzystnie oddziaływać na rośliny, powodując nadprodukcję reaktywnych form tlenu w ich komórkach co prowadzić może do powstania stresu oksydacyjnego. Widocznym efektem istnienia stresu oksydacyjnego w roślinach może być spadek wielkości i jakości ich plonu, a w skrajnych przypadkach nawet śmierć rośliny.

Do najważniejszych grup roślin należą zboża, które stanowią podstawę wyżywienia ludzi i zwierząt. Jedną z najważniejszych faz rozwojowych roślin jest ich kiełkowanie i wczesne stadia rozwoju, dlatego obecność na tych etapach wzrostu roślin jakichkolwiek czynników stresowych jest jednym z ważniejszych problemów współczesnego rolnictwa, gdyż może prowadzić do znacznego spadku wielkości i jakości plonu. Do zbóż jarych mających duże znaczenie gospodarcze należy jęczmień. Zboże to posiada jeden z najsłabiej rozwiniętych systemów korzeniowych spośród wszystkich zbóż i charakteryzuje się krótkim okresem wegetacji, przez co wymaga stanowisk zasobnych w składniki pokarmowe. Cechy te powodują, że jest on wrażliwy na abiotyczne czynniki stresowe.

W związku z powyższym, w niniejszej pracy dokonano oceny wpływu sześciu imidazoliowych i amoniowych cieczy jonowych (ILs) – chlorków: tetraetyloamoniowego, tetrabutylamoniowego, tetraoktyloamoniowego, 1-etylo-3-metyloimidazoliowego, 1-butylo-3-metyloimidazoliowego i 1-metylo-3-oktyloimidazoliowego, dodanych do gleby w różnych stężeniach, na wzrost i zmiany fizjologiczno-biochemiczne w siewkach jęczmienia jarego. Dokonano również próby oceny, jak długość kontaktu siewek jęczmienia z ILs zawartymi w glebie wpływa na wzrost i rozwój tych roślin.

W części teoretycznej niniejszej pracy scharakteryzowano ciecze jonowe, ich budowę, historię, właściwości, zastosowanie oraz omówiono dotychczasowe badania dotyczące toksyczności cieczy jonowych dla różnych elementów środowiska. Omówiono również mechanizm stresu oksydacyjnego u roślin oraz przyczyny jego występowania.

W części doświadczalnej dokonano charakterystyki materiału wykorzystanego do badań, podano metodykę prowadzonych badań oraz warunki prowadzenia eksperymentu wazonowego. Przedstawiono również wpływ badanych ILs na podstawowe parametry fitotoksyczności tj. potencjał kiełkowania i zdolność kiełkowania nasion, inhibicję długości korzeni, części nadziemnych roślin oraz plonu świeżej masy siewek jęczmienia jarego. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono wartości EC_{50} . Opisano również wpływ badanych ILs na zawartość suchej masy roślin oraz barwników asymilacyjnych. Następnie dokonano oceny wpływu ILs

zawartych w glebie na zawartość podstawowych biomarkerów stresu oksydacyjnego w jęczmieniu jarym tj. poziom MDA, H₂O₂ oraz wolnej proliny. Kolejnym elementem niniejszej pracy było określenie wpływu badanych ILS dodanych do gleby na zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych tj. peroksydaza, katalaza oraz dysmutaza ponadtlenkowa w siewkach jęczmienia jarego. Wszystkie rozdziały, w których omówiono wyniki badań własnych, zawierają również dyskusję i odniesienia do danych prezentowanych w dostępnej obecnie literaturze.

Kolejnym elementem pracy było określenie możliwości wykorzystania aplikacyjnego badanych związków. W rozdziale opisano przeprowadzone badania, mające na celu określenie potencjalnych właściwości chwastobójczych zastosowanych ILS. Badane związki zostały zastosowane w postaci oprysków na liście żóltlicy drobnokwiatowej oraz szczawiu zwyczajnego. W celu oceny właściwości chwastobójczych badanych związków obserwowano zmiany zachodzące w wyglądzie roślin, określono inhibicję długości roślin i ich korzeni, zmiany zawartości suchej masy roślin oraz barwników asymilacyjnych.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że związkiem nie wykazującym oddziaływania na rośliny był chlorek tetraoktyloamoniowy. Związkiem mającym zaś najsilniejszy wpływ na wzrost i rozwój siewek jęczmienia jarego oraz wykazującym najsilniejsze właściwości chwastobójcze, które mogłyby zostać potencjalnie wykorzystane w przyszłości, był natomiast chlorek 1-metylo-3-oktyloimidazoliowy.

SUMMARY

Ionic liquids are chemical compounds, which thanks to their diverse properties and practically unlimited possibilities of synthesis have found wide application in various branches of industry, including agriculture. When released into the environment, these compounds can be taken up by plants and have an impact on their growth and development. The results of many years of research show that various factors, such as temperature, light, salinity, pathogens or various types of soil contamination, including chemical compounds, may adversely affect plants, causing overproduction of reactive oxygen species in their cells, which may lead to the formation of oxidative stress. A visible effect of oxidative stress in plants may be a decrease in the size and quality of their yield, and in extreme cases even the death of the plant.

The most important groups of plants are cereals, which are the basis of human and animal nutrition. One of the most important development phases of plants is their germination and early stages of development, therefore the presence of any stress factors at these stages of plant growth is one of the most important problems of modern agriculture, because it can lead to a significant decrease in the size and quality of yield. Barley is one of the spring cereals of great economic importance. This cereal has one of the least developed root systems among all cereals and is characterized by a short vegetation period, which requires locations rich in nutrients. These features make it sensitive to abiotic stress factors.

Therefore, the influence of six imidazolium and ammonium ionic liquids: tetraethylammonium chloride, tetrabutylammonium chloride, tetraoctylammonium chloride, 1-ethyl-3-methylimidazolium chloride, 1-butyl-3-methylimidazolium chloride and 1-methyl-3-octylimidazolium chloride, added to the soil in different concentrations, on the growth and physiological-biochemical changes in spring barley seedlings. An attempt was also made to assess how the length of contact between barley seedlings and ILs contained in the soil affects the growth and development of these plants.

The theoretical part of this work describes the characterization of ionic liquids, their structure, history, properties, application and discusses the previous research on the toxicity of ionic liquids to various elements of the environment. The mechanism of oxidative stress in plants and its causes are also discussed.

In the experimental part, the characteristics of the material used in the research were described, the methodology of the research and the conditions for conducting a vase experiment were given. The influence of the studied ILs on the basic parameters of phytotoxicity, i.e. germination potential and germination capacity of seeds, inhibition of root and shoot length, and yield of fresh weight of spring barley seedlings were also presented. EC_{50} values were determined on the basis of the obtained results. The influence of ILs on the content of dry weight in plants and assimilation pigments was also described. Next, the influence of ILs contained in the soil on the content of basic oxidative stress biomarkers in spring barley, i.e. MDA, H_2O_2 and free proline levels, was evaluated. Another element of this study was the determination of the effect of the tested ILs added to the soil on the changes in antioxidant enzymes activity, i.e.

peroxidase, catalase and superoxide dismutase in spring barley seedlings. All the chapters, in which the results of own research was discussed, also contain discussion and references to presentational data in the currently available literature.

Another element of the paper was to ascertain the applicability of the studied compounds. The chapter describes the research conducted in order to determine the potential weed killing properties of ILs used. The studied compounds were applied by the method of spraying on the leaves of gallant soldier and common sorrel. In order to evaluate the weed killing properties of the studied compounds, changes in the appearance of plants were observed, inhibition of the length of plants and their roots, changes in the content of plant dry weight and assimilation pigments were determined.

The obtained results indicate that tetraoctylammonium chloride was a compound which did not show any effect on plants. On the other hand, 1-methyl-3-octylimidazolium chloride was the most potent agent affecting the growth and development of spring barley seedlings and showed the strongest weed-killing properties that could potentially be used in the future.

WSTĘP

Zboża to rośliny uprawne z rodziny wiechlinowatych, które stanowią jedno z podstawowych źródeł pożywienia dla ludzi i zwierząt na świecie. W Polsce ok. 70% upraw stanowią właśnie te rośliny. Do podstawowych gatunków zbóż uprawianych obecnie na świecie należą kukurydza, ryż, pszenica, jęczmień, sorgo, owies, żyto i pszenżyto. Według danych Głównego Urzędu Statystycznego (GUS) w 2016 roku zbiór zbóż na świecie wyniósł ogółem 2 848 661,914 tys. ton, a ich uprawy zajęły łącznie 718 130,478 tys. ha, w tym w Polsce 7 462,423 tys. ha. W roku 2017 natomiast uprawa zbóż na świecie zajęła łącznie 731 541,283 tys. ha, w tym w Polsce 7 602 tys. ha, dając w sumie światowy zbiór wielkości 2 980 174,798 tys. ton. Największy udział w uprawie zbóż miały: Chiny, Indie, Rosja i Stany Zjednoczone. Zbiór zbóż ogółem w Polsce według szacunków GUS wyniósł 29,85 mln ton. w roku 2016, 28,1 mln ton w 2017 roku, 26 mln ton w 2018 i 28,8 mln ton w 2019.

Mniejsze zbiory zbóż mogą powodować klęski głodu na świecie i wiązać się z dużymi podwyżkami cen wielu asortymentów codziennego użytku. Zboża wykorzystywane są bowiem, poza celami bezpośrednio konsumpcyjnymi, w postaci mąki służącej m.in. do wypieku chleba czy kasz oraz produkcji różnego typu produktów żywnościowych również jako pasze dla zwierząt. Poza tym stanowią surowiec w różnych gałęziach przemysłu tj. piwowarstwo czy gorzelnictwo. Są one bogate w węglowodany (ok. 70% ich składu), niewielkie ilości tłuszczu (ok. 2%, z wyjątkiem kukurydzy – 7% i owsa – 5%), białka ogólnego (9-14% w zależności od gatunku). Ponadto owies zawiera w swym składzie witaminy E i B1, natomiast jęczmień zawiera witaminę B3 (kwas nikotynowy) oraz niewielkie ilości witaminy D i karotenu. Ze względu na olbrzymie gospodarcze znaczenie zbóż niezmiernie ważne jest, aby cały czas dokładnie monitorować rynek zbóż na świecie i próbować przeciwdziałać spadkom ich produkcji. Niestety nie mamy wpływu na większość zagrożeń, które mają bezpośredni wpływ na wielkość uzyskiwanych plonów tj. susze, zbyt obfite i długotrwałe deszcze, powodzie, zbyt wysokie lub zbyt niskie temperatury czy tornada. Można jednak wpływać w pewnym stopniu na wielkość i jakość zbiorów dbając, aby jak najmniej zanieczyszczeń docierało do gleb, co może przeciwdziałać zmniejszaniu wielkości zbioru zbóż nadających się do konsumpcji.

W ostatnich latach bardzo dużą uwagę przykładana się do ograniczenia stopnia zanieczyszczeń antropogenicznych tj. zanieczyszczenia substancjami ropopochodnymi, ograniczenia emisji spalin, które są przyczyną efektu cieplarnianego i kwaśnych deszczy, próby zwiększenia upraw ekologicznych w stosunku do tradycyjnych w celu zmniejszenia zużycia różnego rodzaju środków ochrony roślin oraz ogólnej chemizacji rolnictwa. Istotne znaczenie ma tutaj ciągłe udoskonalanie systemów oczyszczania ścieków, w celu ograniczenia przedostania się do wody i gleby zanieczyszczeń generowanych przez przemysł, metali ciężkich, leków oraz wielu innych substancji chemicznych.

Ważnym jest również, aby oprócz próby minimalizowania niekorzystnego wpływu działalności człowieka na środowisko nie tworzyć nowych źródeł czy substancji, które mogłyby jeszcze bardziej to środowisko zanieczyścić. Należy zatem

działać zgodnie z zasadą „lepiej zapobiegać niż leczyć”. Naprzeciw tym wymaganiom wyszedł Paul Anastas tworząc 12 zasad, których stosowanie ma na celu takie projektowanie i prowadzenie procesów chemicznych, aby ograniczyć zużycie substratów i produkcję substancji szkodliwych. Zarówno w Polsce, Unii Europejskiej, jak i w innych rejonach świata, władze wprowadziły wiele różnych przepisów prawnych, które mają na celu ochronę środowiska przed różnego rodzaju zanieczyszczeniami. Stosując się do tych zasad, wielu naukowców na całym świecie prowadzi badania mające na celu określenie wpływu poszczególnych związków na różne elementy środowiska naturalnego, aby wykluczyć, a przynajmniej maksymalnie zminimalizować ryzyko przedostania się do środowiska związków, które mogłyby je zanieczyścić. Czystsze środowisko to równocześnie lepsze warunki do życia, lepsza jakość powietrza którym oddychamy, wody, którą pijemy oraz pożywienia, które produkujemy i spożywamy.

Jedną ze stosunkowo nowych grup związków, które mogą mieć olbrzymie możliwości wykorzystania w różnych gałęziach przemysłu są ciecze jonowe (ILs). Warto w tej grupie związków wyróżnić herbicydowe ciecze jonowe (HILs) oraz bioherbicydowe ciecze jonowe (Bio-HILs). Początkowo ILs były traktowane jako „zielone rozpuszczalniki”, całkowicie bezpieczne dla środowiska, przez co miały stanowić alternatywę dla tradycyjnie stosowanych rozpuszczalników organicznych. Jednak bardzo szybko okazało się, że wiele z tych związków wykazuje toksyczność w stosunku do różnych elementów środowiska naturalnego i oddziaływanie to w przypadku niektórych ILs jest większe, niż w przypadku tradycyjnie stosowanych rozpuszczalników organicznych. Jednak ze względu na fakt, że związki te można tak projektować, aby dobierając odpowiednio kation i anion uzyskać substancje, które będą posiadały pożądane właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne, w obrotach pojawiają się ciągle nowe ciecze jonowe.

Obecność w środowisku ksenobiotyków tj. ciecze jonowe może powodować u roślin nadprodukcję reaktywnych form tlenu (RFT) i tym samym prowadzić do powstania stresu oksydacyjnego. RFT powstają w każdej komórce również w efekcie normalnie przebiegających procesów metabolicznych, takich jak np. fotosynteza. Reaktywne formy tlenu są usuwane przez system enzymatycznych i nieenzymatycznych mechanizmów antyoksydacyjnych. Stres oksydacyjny to stan, w którym następuje zaburzenie równowagi pomiędzy produkcją RFT, a szybkością ich usuwania. RFT, które nie zostały zdetoksykowane powodują uszkodzenia w obrębie komórki, które mogą powodować ograniczenie wzrostu i rozwoju roślin, a w skrajnych przypadkach ich śmierć.

Jednym z większych problemów, z jakim musi zmierzyć się obecnie rolnictwo, jest obecność różnych czynników stresowych już na etapie kiełkowania nasion i początkowego wzrostu roślin, czyli jednych z najważniejszych faz wzrostu roślin.

CEL PRACY

Podstawowym celem niniejszej pracy jest określenie w jaki sposób obecność w glebie cieczy jonowych (chlorki amoniowe i imidazoliowe z podstawnikiem alkilowym o różnej długości łańcucha) i długość ekspozycji na te związki chemiczne wpływa na wzrost i rozwój siewek jęczmienia jarego.

W celu realizacji celu podstawowego poszukiwano odpowiedzi na następujące pytania:

1. jaki wpływ na kiełkowanie nasion, a następnie wzrost i rozwój roślin ma obecność w glebie cieczy jonowych,
2. w jaki sposób czas kontaktu jęczmienia jarego z badanymi cieczami jonowymi wprowadzonymi do gleby, przekłada się na fitotoksyczność tych związków,
3. w jaki sposób czas kontaktu jęczmienia jarego z badanymi cieczami jonowymi wpływa na zawartość barwników asymilacyjnych w siewkach tego zboża,
4. w jaki sposób czas kontaktu jęczmienia jarego z badanymi cieczami jonowymi wpływa na zawartość podstawowych biomarkerów stresu oksydacyjnego tj. zawartość H_2O_2 , dialdehydu malonowego oraz wolnej proliny,
5. czy obecność cieczy jonowych w glebie wpływa na zmiany aktywności podstawowych enzymów antyoksydacyjnych w siewkach jęczmienia jarego.

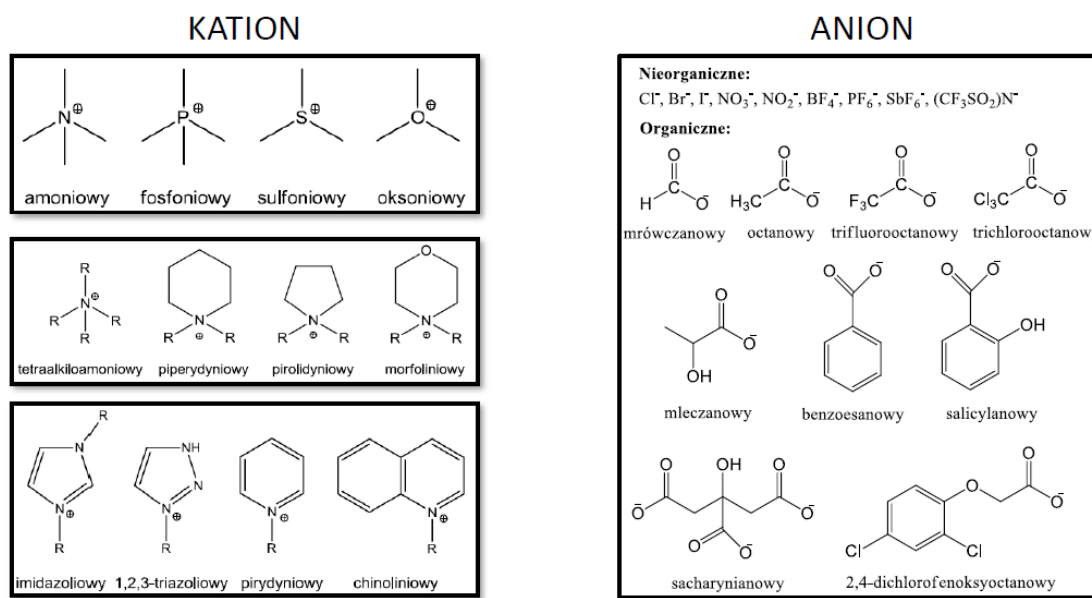
Ponadto dokonano próby odpowiedzi na pytanie, czy badane ciecze będą mogłyby być traktowane jako związki o potencjalnych właściwościach chwastobójczych.

CZEŚĆ TEORETYCZNA – PRZEGLĄD LITERATURY

1. Ciecze jonowe

1.1. Definicja, budowa, historia

Ciecze jonowe (ILs, z ang. *Ionic liquids*) to związki chemiczne o budowie jonowej. Zbudowane są z organicznego kationu oraz organicznego lub nieorganicznego anionu. Przykładowe kationy i aniony, z których zbudowane mogą być ciecze jonowe zostały przedstawione na rys. 1 [1-3].



Rys. 1. Przykładowe kationy i aniony z jakich mogą być zbudowane ciecze jonowe [2,4].

Charakterystyczną cechą cieczy jonowych jest ich temperatura topnienia, która nie przekracza 100 °C. Możliwość różnych połączeń kationów i anionów w celu uzyskania cieczy jonowych jest wręcz nieograniczona, a ilość takich kombinacji szacowana jest na 10^{18} [2,4-8].

Pierwszą w historii zsyntezowaną cieczą jonową był otrzymany w XIX wieku, tzw. „czerwony olej”. W 1911 roku kolejnej próby syntezy tego typu związków dokonali również Ray i Rakshit, jednak otrzymany przez nich związek okazał się nietrwały. Pierwszą stabilną cieczą jonową – azotan etyloamoniowy, zsyntezował Walden w 1914 roku. W literaturze fachowej określenie cieczy jonowe (*Ionic liquids*, ILs) użyte zostało po raz pierwszy 1974 roku, jednak zainteresowanie cieczami jonowymi pojawiło się dopiero po roku 1996, po publikacji Seddona dotyczącej tej grupy związków. Trzy lata po tej publikacji w sprzedaży pojawiła się pierwsza ciecz jonowa. Od tamtego czasu zainteresowanie ILs jest olbrzymie i rocznie ukazuje się kilka tysięcy różnego typu publikacji na ich temat [1,2,9,10].

W literaturze naukowej istnieje kilka różnych klasyfikacji cieczy jonowych ze względu na ich budowę i właściwości. Ze względu na rodzaj kationu ILs możemy podzielić np. na amoniowe, fosfoniowe, sulfoniowe, oksoniowe, imidazoliowe,

pirydyniowe, piperydyniowe czy pirolidyniowe. Można również zastosować podział na ILS z kationem alifatycznym, heterocyklicznym, aromatycznym lub niearomatycznym.

Dostępny jest również podział cieczy jonowych na protonowe (ang. PILs – *protic ionic liquids*) oraz aprotonowe (ang. AILs – *aprotic ionic liquids*). Protonowe ciecze jonowe różnią się od aprotonowych tym, że w ich budowie występuje co najmniej jeden atomu wodoru połączony z centralnym atomem siarki, fosforu, tlenu czy azotu.

Ze względu na właściwości cieczy jonowych w 2007 roku dokonano ich podziału na trzy generacje:

- 1) Ciecze jonowe I generacji – to związki organiczne charakteryzujące się określonymi właściwościami fizycznymi takimi jak: stabilność termiczna, dobre przewodnictwo elektryczne, temperatura topnienia, lepkość, gęstość, hydrofilowość.
- 2) Ciecze jonowe II generacji – to związki o założonych właściwościach fizycznych i chemicznych tj. chiralność, reaktywność czy zdolność do ekstrahowania różnych substancji.
- 3) Ciecze jonowe III generacji – to najnowsza grupa cieczy jonowych, w której dzięki odpowiedniemu doborowi kationu i anionu możemy sterować nie tylko właściwościami fizycznymi i chemicznymi cieczy jonowych, ale także decydować o ich właściwościach biologicznych tj. właściwości bakteriobójcze, grzybobójcze, przeciwdrobnoustrojowe czy herbicydowe.

W literaturze naukowej pojawiają się też określenia i podziały cieczy jonowych ze względu na ich wyjątkowe właściwości, takie jak: chiralne, słodkie, herbicydowe czy barwne ciecze jonowe.

Ciecze jonowe ciekłe w temperaturze pokojowej określane są jako niskotemperaturowe ciecze jonowe (z ang. RILs, *room temperature ionic liquids*).

Nieograniczone wręcz możliwości syntezy cieczy jonowych w kierunku uzyskania związków o interesujących właściwościach powodują, że bardzo często określane są one jako „rozpuszczalniki projektowalne” [11-15].

1.2. Właściwości i zastosowanie cieczy jonowych

Olbrzymie zainteresowanie cieczami jonowymi związane jest z ich wieloma bardzo pożądanymi i doskonałymi właściwościami fizykochemicznymi tj. [5,16-20]:

- Temperatura topnienia poniżej 100 °C
- Stabilność termiczna
- Stabilność elektrochemiczna
- Niepalność
- Niska prężność par
- Nielotność
- Dobre przewodnictwo
- Właściwości katalityczne
- Aktywność powierzchniowa (ciecze jonowe rozpuszczalne w wodzie)
- Występowanie w stanie ciekłym w szerokim zakresie temperatur

- Są dobrymi rozpuszczalnikami związków organicznych i nieorganicznych.

Dzięki tak wielu pożądanym właściwościom, ciecze jonowe znalazły zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, a prace nad kolejnymi możliwościami ich zastosowań ciągle są prowadzone. Próby wykorzystania cieczy jonowych związane są z koniecznością używania do produkcji związków, które oprócz doskonałych właściwości będą posiadały jedną bardzo ważną cechę tzn. będą bezpieczne dla środowiska. W 1991 roku Anastas wprowadził 12 zasad, które stanowią podstawę koncepcji, aby projektowanie i prowadzenie procesów chemicznych przebiegało w sposób, który ogranicza użycie i powstawanie szkodliwych substancji. Według Anastasa „zielona chemia” powinna opierać się na [20]:

1. Zapobieganiu powstawaniu odpadów
2. Maksymalnym oszczędzaniu surowców („ekonomia atomowa”)
3. Ograniczeniu użycia oraz produkcji substancji niebezpiecznych
4. Projektowaniu bezpiecznych produktów chemicznych
5. Ograniczeniu wykorzystywania rozpuszczalników i substancji pomocniczych oraz stosowaniu ich bezpieczniejszych rodzajów
6. Efektywnym wykorzystywaniu energii w procesach chemicznych, a jeśli to możliwe prowadzenie ich w warunkach pokojowych
7. Wykorzystywaniu surowców ze źródeł odnawialnych
8. Ograniczeniu produkcji pochodnych związków
9. Wyborze reakcji katalitycznych
10. Projektowaniu produktów ulegających degradacji
11. Kontroli procesów w czasie rzeczywistym
12. Stosowaniu substancji minimalizujących możliwość wystąpienia wypadków.

Dzięki możliwościom projektowania cieczy jonowych istnieje możliwość uzyskania takich związków, które będą spełniały zasady „zielonej chemii”. Jako pierwsze podjęte zostały próby zastosowania cieczy jonowych w elektrochemii jako elektrolitów w ogniwach paliwowych i słonecznych, bateriach litowo-jonowych oraz kondensatorach elektrochemicznych. W syntezie chemicznej stanowią one alternatywę dla tradycyjnie stosowanych związków organicznych. Ciecze jonowe stosowane są jako rozpuszczalniki, efektywne katalizatory oraz jako substraty w wielu różnego typu reakcjach syntezy. Wykorzystywane są również w ekstrakcji, w biotechnologii, czy w analityce chemicznej (chromatografia, spektrometria masowa) oraz jako smary i surfaktanty. ILs mogą być również wykorzystywane w medycynie do balsamowania i utrwalania tkanek miękkich (zamiast formaliny). Ciecze jonowe wykorzystywane są również z powodzeniem w rolnictwie, jako herbicydy czy regulatory wzrostu. Podejmowane są również próby wykorzystania cieczy jonowych w przemyśle farmakologicznym, spożywczym, czy np. do impregnacji drewna oraz w wielu innych dziedzinach przemysłu [4,16, 21-27].

1.3. Herbicydowe ciecze jonowe oraz regulatory wzrostu roślin

Tak jak już wspomniano powyżej ciecze jonowe mogą być z powodzeniem wykorzystywane jako herbicydy oraz jako regulatory wzrostu. Herbicydowe ciecze jonowe (z ang. *Herbicidal Ionic Liquids*, HILs) to grupa związków chemicznych, po raz pierwszy zaprojektowanych i opisanych przez zespół profesora Pernaka w 2011 roku [28]. HILs są to związki należące do trzeciej generacji cieczy jonowych, w których jeden z jonów wykazuje właściwości herbicydowe. W literaturze naukowej można znaleźć związki tego typu zawierające w swoim składzie 2,4-D (kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy), MCPA (kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy), MCPP (Mekoprop, kwas 4-chloro-2-metylofenoksypropionowy), MCPB (kwas 4-(4-chloro-2-metylofenoksy)butanowy), dicambę, TBA, glifosat, clopyralid, MSM (metsulfuron metylu) i inne. Podobnie jak wszystkie ciecze jonowe, HILs charakteryzują się doskonałymi właściwościami fizykochemicznymi tj.: niska lotność, duża stabilność termiczna i elektrochemiczna oraz słaba rozpuszczalność w wodzie. Charakteryzuje je również wysoka aktywność biologiczna. Co najważniejsze, związki te wykazują potencjalnie silniejsze działanie herbicydowe niż tradycyjnie stosowane środki chwastobójcze, dzięki czemu istnieje możliwość zmniejszenia dawki składnika aktywnego preparatu na hektar, co z kolei zmniejsza ryzyko niekorzystnego oddziaływania na środowisko i zdrowie człowieka [22,26,29-32].

Stawiając kolejny krok w prowadzonych badaniach stworzono dwufunkcyjne ciecze jonowe, które oprócz doskonałych właściwości herbicydowych wykazują również właściwości regulatora wzrostu roślin. W związkach takich anion ma właściwości herbicydowe np. 2,4-D, MCPA, a kationem jest inhibitor wzrostu np. chlorek chlorocholiny (CCC). Opierając się na podobnych zasadach stworzono również dwufunkcyjne HILs, które oprócz właściwości chwastobójczych wykazują właściwości grzybobójcze, dzięki połączeniu kationu o działaniu chwastobójczym z anionem o działaniu grzybobójczym np. tebukonazolem [32].

Najnowsze trendy w syntezie herbicydowych cieczy jonowych skupiają się na syntezie tych związków z substancji występujących naturalnie np. kwas pelargonowy występujący w kwiatach *Pelargonium roseum*, oleju kokosowego czy oleju rzepakowego. Opisane zostały również HILs oparte na betainie, karnitynie, cholinie czy D-glukozie. Związki te charakteryzują się niższą toksycznością, niż dotychczas stosowane HILs oraz biodegradowalnością. HILs zsyntezowane z naturalnie występujących substancji określane są mianem Bio-HILs (z ang. *Bioherbicydal ionic liquids*) [22,33-37].

HILs są wchłaniane przez rośliny poprzez system korzeniowy lub przez liście i transportowane za pomocą systemu przewodzącego roślin (drewno, łyko), powodując hamowanie wzrostu pędów i korzeni, prowadząc do śmierci rośliny. Dokładny mechanizm takiej reakcji nie jest do końca poznany. Uważa się, że związki te są aktywne i działają w różnych miejscach szlaku metabolicznego powodując zakłócenia w równowadze hormonalnej roślin, zakłócenia w biosyntezie kwasów nukleinowych i białek czy nadprodukcję kwasu abscynowego [28].

1.4. Toksyczność cieczy jonowych

Pierwsze publikacje dotyczące cieczy jonowych wskazywały, że są to związki bezpieczne dla środowiska i mogą stanowić doskonałą alternatywę dla tradycyjnie stosowanych rozpuszczalników organicznych. Określano je nawet mianem „zielonych rozpuszczalników”. Bardzo szybko okazało się jednak, że ILs mogą wykazywać toksyczność dla różnych elementów środowiska naturalnego. Ze względu na swoją nielotność związki te nie powinny stanowić większego zagrożenia dla powietrza, ale środowisko wodne i glebowe mogą być potencjalnie narażone na zanieczyszczenie ILs, które mogą się tam przedostać w postaci odpadów poprodukcyjnych, wraz ze ściekami, czy choćby w wyniku różnego rodzaju wypadków na liniach produkcyjnych, czy podczas transportu. Obecnie w dostępnej literaturze można znaleźć doniesienia o toksyczności cieczy jonowych dla mikroorganizmów, grzybów, glonów, planktonu, bezkręgowców, kręgowców oraz roślin wyższych [2,38-44].

Wyniki pierwszych badań dotyczących toksyczności ILs pojawiły się w literaturze naukowej już w 2001 roku. Dotyczyły one określenia toksyczności wobec bakterii i grzybów. Okazało się, że aktywność ILs wobec mikroorganizmów była silnie uzależniona od rodzaju kationu oraz długości łańcuchów bocznych w podstawnikach [45,46].

Obecnie w literaturze naukowej można znaleźć prace traktujące o toksycznym oddziaływaniu cieczy jonowych na rozwój różnych szczepów bakterii gram-dodatnich, gram-ujemnych, bakterii morskich czy chorobotwórczych oraz grzybów [17,28,42,47-54]. Docherty i Kulpa [48] oraz Yu i Nie [55], Suchodolski i wsp. [56] określając toksyczność imidazoliowych i pirydyniowych ILs dla bakterii *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, grzybów *Candida albicans* oraz drożdży *Saccharomyces cerevisiae* stwierdzili, że zwiększenie długości łańcucha grupy alkilowej oraz ilości podstawionych grup alkilowych, prowadziło do wzrostu aktywności przeciwdrobnoustrojowej badanych związków. Buseti i wsp. [57] oznaczając wartość minimalnej dawki hamującej (MIC) alkilo-chinolinowych cieczy jonowych dla *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella aerogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Candida tropicalis*, stwierdzili, że największą toksycznością charakteryzowały się związki z 14-to węglowym podstawnikiem, podczas gdy łańcuchy alkilowe zawierające 16 i 18 węgli nie były już tak skuteczne.

Biorąc pod uwagę fakt, że część cieczy jonowych jest bardzo dobrze rozpuszczalna w wodzie oraz ze względu na ich dużą stabilność, pojawiło się zagrożenie, że związki te mogą przedostać się do zbiorników wodnych i być tam akumulowane. Prowadzone były zatem liczne badania dotyczące toksyczności ILs m.in. dla cyjanobakterii *Geitlerinema amphibium* [58], bakterii *Aliivibrio fischeri* [50,59] mikroalg *Scenedesmus obliquus* [19,43,60-62], *Scenedesmus quadricauda* [63], *Selenastrum capricornutum* [64-66], *Botryococcus braunii* [63], *Euglena gracilis* [60], makroalg *Ulva lactuca*, zielenic *Scenedesmus vacuolatus* [50,67,68], *Chlamydomonas reinhardtii* [69,70], *Chlorella ellipsoidea* [61], *Oocystis submarina* [71], *Chlorella vulgaris* [63,71], rzęsy wodnej *Lemna minor* L. [24], okrzemek *Bacillaria paxillifer*

[40,71], *Skeletonema costatum* [72], *Phaeodactylum tricornutum* [73], *Cyclotella meneghiniana* [71,74], skorupiaków *Daphnia magna* [66], ryb *Danio rerio* [66,75], *Cyprinus carpio* [76], *Carassius auratus* [77], oraz żab *Rana nigromaculata* [78].

Pomimo licznie prowadzonych badań ekotoksykologicznych do tej pory brak jest ujednoczonej skali, która wprowadzałaby klasyfikację toksyczności ILs. Niektórzy autorzy porównują więc toksyczność ILs ze znanymi i powszechnie używanymi rozpuszczalnikami organicznymi. Passino i Smith [79] zaproponowali natomiast skalę toksyczności, która w zależności od wartości EC_{50} dzieli związki chemiczne na: praktycznie nieszkodliwe – 100-1000 mg/l, umiarkowanie toksyczne – 10-100 mg/l, słabo toksyczne – 1-10 mg/l, wysoce toksyczne – 0,1-1 mg/l, bardzo toksyczne – 0,01-0,1 mg/l i supertoksyczne – mniej niż 0,01 mg/l. Pretti i wsp. [66] wykorzystali tę skalę do oceny toksyczności cieczy jonowych dla glonów *Selenastrum capricornutum*. W rozporządzeniu Unii Europejskiej [80] dotyczącym toksyczności związków chemicznych dla organizmów wodnych, w zależności od wyznaczonych wartości EC_{50} lub LC_{50} dzieli się substancje na wykazujące toksyczność ostrą, toksyczność chroniczną oraz związki nietoksyczne. Toksyczność ostra podzielona jest na 3 kategorie, a toksyczność chroniczna na 4. W podziale tym ważną rolę odgrywa również biodegradacja badanych związków oraz ich potencjalna lub obecna bioakumulacja.

Według licznie prowadzonych badań toksyczność ILs dla organizmów wodnych uzależniona jest w największym stopniu od rodzaju kationu, długości łańcucha alkilowego w podstawniku, od stężenia badanego związku, a w mniejszym stopniu od rodzaju anionu. Matzke i wsp. [50] oraz Stolte i wsp. [68] przebadali ponad 40 cieczy jonowych różniących się strukturą kationów, ze zróżnicowaną długością łańcucha alkilowego w podstawniku oraz z różnym anionem i stwierdzili dużą wrażliwość alg *Scenedesmus vacuolatus* na badane ILs. Autorzy obserwowali m.in. zahamowanie rozmnażania się alg. Chen i wsp. [60] badając wpływ mleczanów imidazoliowych o różnej długości łańcucha alkilowego dla *Euglena gracilis* i *Scenedesmus obliquus* oraz Ma i wsp. [61] określając oddziaływanie bromków alkiloimidazoliowych na wzrost i rozwój *Chlorella ellipsoidea* i *Scenedesmus obliquus* zaobserwowali, że toksyczność cieczy jonowych wzrasta wraz z długością łańcucha alkilowego w podstawniku oraz stężeniem badanych związków. Badane ILs miały duży wpływ na produkcję biomasy alg.

Duże znaczenie dla toksyczności ILs ma również to, jakie pierwiastki zawarte są w anionach tych związków. Istnieje grupa ILs zawierająca w swoim składzie fluor. W wyniku hydrolizy tych związków może powstawać toksyczny dla środowiska HF. Cho i wsp. [64] badając toksyczność wybranych imidazoliowych cieczy jonowych dla *Selenastrum capricornutum* uszeregowali toksyczność anionów według następującego schematu: $SbF_6^- > PF_6^- > BF_4^- > CF_3SO_3^- > C_8H_{17}OSO_3^- > Br^- = Cl^-$.

Ventura i wsp. [81] zaobserwowali, że ILs o budowie aromatycznej są bardziej toksyczne dla *Aliivibrio fischeri* niż ILs o budowie alifatycznej.

Wysoka toksyczność cieczy jonowych przez wielu autorów łączona jest z ich hydrofobowym charakterem, gdyż związki takie mogą cechować się wysoką lipofilnością tzn. zdolnością do rozpuszczania się w tłuszczach i błonach białkowo-lipidowych, co może prowadzić do trwałego uszkodzenia błon komórkowych.

Umożliwia to z kolei wnikanie ILs do komórki i negatywne oddziaływanie na różne organella komórkowe [4,6,38,42,68,81]. Couling i wsp. [82] wskazują natomiast, że wzrost toksyczności cieczy jonowych związany jest także z ilością atomów azotu w pierścieniu. Uszeregowali oni toksyczność kationów w następujący sposób: triazoliowy > imidazoliowy > pirydyniowy > amoniowy.

Dong i wsp. [83] badając toksyczność heksafluorofosforanu 1-oktylo-3-metyloimidazoliowego oraz Li i wsp. [77,78] badając bromek 1-metylo-3-oktylimidazoliowy doszli do wniosku, że ILs mają duży wpływ na ryby *Cyprinus carpio*, *Danio reiro*, *Carassius auratus* oraz żabę *Rana nigromaculata*. Badane ILs powodowały zarówno zaburzenia na etapie rozwoju zarodkowego, powodowały wzrost wad rozwojowych, zmniejszenie wylęgu, jak również były bardzo toksyczne dla dorosłych osobników.

Ciecze jonowe po przedostaniu się do wód mogą być adsorbowane w osadach dennych lub przedostawać się do gleb, w których również może następować proces sorpcji ILs na koloidach glebowych. Matzke i wsp. [84], Mrozik i wsp. [85], Stepnowski i wsp. [86] oraz Studzińska i wsp. [87] donoszą, że kationy imidazoliowe i pirydyniowe mogą adsorbować się na różnych typach osadów morskich i glebach. Autorzy Ci wykazali, że długołańcuchowe hydrofobowe ILs adsorbowane są znacznie silniej, niż te z krótkimi łańcuchami alkilowymi. W cytowanych pracach wykazano ponadto, że siła sorpcji ILs na glebach czy osadach zależy zarówno od struktury ILs, ich właściwości fizykochemicznych, jak i od zawartości substancji organicznej oraz materiałów ilastych w glebie, czy w osadzie oraz od pH. ILs, podobnie jak ich prekursorzy – czwartorzędowe sole jonowe, mogą mieć wpływ na aktywność biochemiczną gleby, powodując zaburzenia m.in. w aktywności enzymów glebowych tj. oksydoreduktazy, hydrolazy, izomerazy, ligazy, liazy i transferazy [88-90].

Z gleby ciecze jonowe mogą być pobierane przez rośliny i wpływać na wzrost i rozwój tych organizmów. Pierwsze prace donoszące o toksyczności ILs dla roślin wyższych pojawiły się w 2007 roku [10]. Obecnie w literaturze naukowej znajdują się liczne prace traktujące o toksyczności cieczy jonowych dla roślin wyższych m.in. rzeżuchy (*Lepidium sativum* L.) [41,91], rzodkiewki zwyczajnej (*Raphanus sativus* L. subvar. *radicula* Pers.) [92-94], ryżu (*Oryza sativa* L.) [95,96], jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.) [92,97], pszenicy (*Triticum aestivum* L.) [84,91,98-101], cebuli (*Allium cepa* L.) [94], bobu (*Vicia faba*) [102,103], życicy trwałej (*Lolium perenne*) [94] oraz różnych gatunków chwastów m.in. żółtlicy drobnokwiatowej (*Galinsoga parviflora* Cav.) [104,105], komosy białej (*Chenopodium album* L.) [31,106], szczawiu zwyczajnego (*Rumex acetosa* L.) [105,106], chabru bławatka (*Centaurea cyanus* L.) [35] oraz stulichy psiej (*Descurainia sophia* L.) [31]. W celu bezpośredniego określenia wpływu ILs na rośliny i jak największego zminimalizowania wpływu innych czynników środowiska, część badaczy prowadzi swoje badania w postaci upraw hydroponicznych [95-98]. W literaturze naukowej dostępne są również prace dotyczące oddziaływania ILs dodanych do gleby na wzrost oraz rozwój roślin wyższych, co w większym stopniu odzwierciedla warunki naturalne, w jakich rośliny prowadzą vegetację [21,91,93,94,106-109].

Podobnie jak w przypadku organizmów wodnych badacze uzależniają wpływ ILs na rośliny wyższe od ich budowy. Studzińska i Buszewski [41], Cvjetko Bubalo i wsp.

[97] oraz Liu i wsp. [98,102] badając wpływ różnych imidazoliowych ILs stwierdzili, że toksyczność ILs dla roślin wzrasta wraz z długością łańcucha alkilowego w podstawniku. Matzke i wsp. [91], Biczak i wsp. [21,106] zaobserwowali jednak, że toksyczność ILs nie zawsze jest liniowo skorelowana z długością podstawnika. Z badań tych autorów wynika, że najbardziej toksyczne dla roślin są ILs z krótszymi łańcuchami alkilowymi w podstawniku natomiast w przypadku związków z długimi łańcuchami alkilowymi fitotoksyczność tych związków maleje. Autorzy zaistniałą sytuację tłumaczą faktem, że związki z długimi łańcuchami alkilowymi są sorbowane na koloidach glebowych, przez co stają się mniej dostępne dla roślin. Natomiast w badaniach prowadzonych w systemie uprawy hydroponicznej efekt wpływu gleby i wszelkich oddziaływań z nią związanych jest całkowicie pomijany i stąd najprawdopodobniej biorą się rozbieżności w wynikach badań.

Wpływ anionów i kationów na fitotoksyczność ILs dla roślin wyższych jest również podobny do tego, jaki obserwowano dla organizmów wodnych. Wielu badaczy dowodzi, że na toksyczność ILs znaczny wpływ ma rodzaj kationu [41,91,106]. Istnieją jednak badania [84,92], które wskazują, że aniony, szczególnie te zawierające w swojej budowie fluor (BF_4^- , PF_6^- , CF_3CO_2^-), mogą wykazywać silną toksyczność w stosunku do roślin wyższych. Niekorzystny wpływ na rośliny mogą wywierać również ILs zawierające aniony chlorkowe, które prowadzą nie tylko do zasolenia gleby, ale również mogą być pobierane przez rośliny zaburzając ich gospodarkę wodną [110-112].

Istnieją ponadto badania dowodzące, że protonowe ILs (PILs) są mniej toksyczne dla roślin niż aprotonowe ILs (AILs) [94].

Zarówno w przypadku badań obejmujących organizmy wodne, jak i lądowe, wszyscy badacze są zgodni, że toksyczność cieczy jonowych wzrasta wraz ze wzrostem stężenia badanych związków. Warto jednak zauważyć, że przy niskich stężeniach ILs mogą działać wręcz jak regulatory wzrostu, powodując szybszy wzrost roślin w stosunku do obiektów kontrolnych [21,92,96,98,108,113].

Badacze uzależniają również fitotoksyczność ILs od gatunku rośliny, na który związek działa [21,35,92,94,107]. Obserwowane różnice w oddziaływaniu ILs, mogą wynikać z różnej budowy roślin zwłaszcza, gdy dotyczy to gatunków zaliczanych do roślin jedno- lub dwuliściennych.

Cvjetko Bubalo i wsp. [97], Liu i wsp. [98], Studzińska i Buszewski [41], Biczak i wsp. [92] w swoich badaniach wskazują, że ILs mogą mieć wpływ na siłę kiełkowania nasion. W niektórych przypadkach nasiona w ogóle nie były w stanie wykiełkować, albo wzrost i rozwój siewek ulegał bardzo silnej inhibicji [21,96,113]. Badane ILs bardzo często prowadziły również do znacznej inhibicji wzrostu korzeni, co miało niepodważalny wpływ na wzrost i rozwój całej rośliny, gdyż korzeń jest organem, który odpowiada nie tylko za utrzymanie roślin w podłożu, ale przede wszystkim za pobieranie wody i substancji odżywczych dla całej rośliny. Oddziaływanie ILs na rośliny może prowadzić także do powstawania u nich zmian chlorotycznych i nekrotycznych. Efektem takiego wpływu ILs na rośliny może być również spadek plonu roślin oraz zmiany zawartości suchej masy [21].

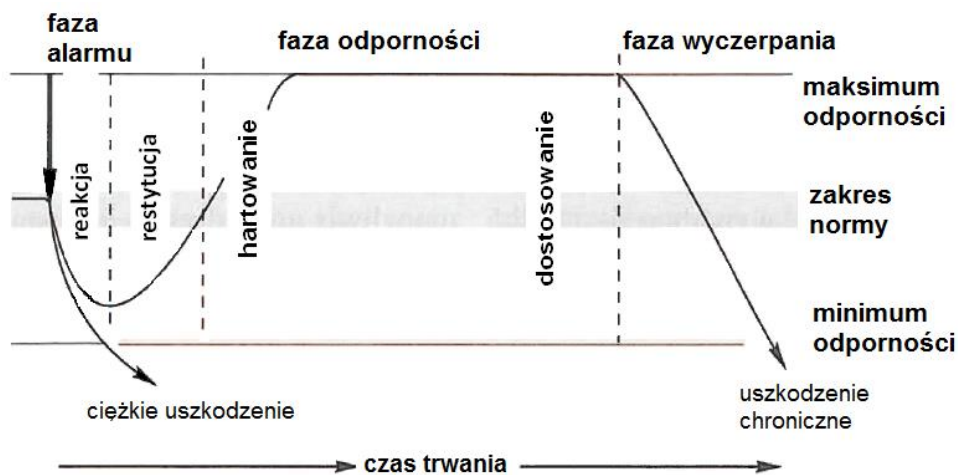
Badania prowadzone dla środowiska lądowego nie ograniczają się jedynie do roślin. W literaturze naukowej dostępne są badania podejmujące próbę oceny wpływu

ILs na kręgowce tj. myszy, szczury i króliki. W tym celu określono dla kilku ILs toksyczność doustną, skórą oraz toksyczność matczyną. Bailey i wsp. [114] zaobserwowali toksyczne oddziaływanie chlorków 1-alkilo-3-metyloimidazoliowych dla myszy. Chlorek 1-decylo-3-metyloimidazoliowy oraz 1-butylo-3-metyloimidazoliowy wykazywały właściwości teratogenne, a chlorek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy obniżał ponadto masę płodu. Knudsen i wsp. [115] badając toksyczność chlorku 1-butylo-3-metylopyrrolidyniowego dla myszy i szczurów wykazali, że związek ten jest wydalany z moczem i nie gromadzi się w większych ilościach w tkankach zwierząt. Acesulfam didecylo-dimetyloamoniowy oraz sacharynian didecylo-dimetyloamoniowy, podawane doustnie w wysokich dawkach nie wykazywały natomiast toksycznego wpływu na szczury [116,117].

Ranke i wsp. [118] wykazali właściwości cytotoksyczne imidazoliowych cieczy jonowych dla komórek szczura z hodowli komórkowej C6 oraz IPC-81. Autorzy Ci dowodzą, że cytotoksyczność ILs wzrasta wraz ze wzrostem długości łańcucha w podstawniku alkilowym w kationie. Stolte i wsp. [119] badali cytotoksyczność 27 różnych ILs i wykazali, że 10 spośród badanych związków wykazało działanie cytotoksyczne dla linii komórek białaczki szczurzej IPC-81 oraz w teście WST-1. Wang i wsp. [120] badali cytotoksyczność ILs w stosunku do komórek ludzkich linii HeLa. Badacze Ci wykazali, że pochodne choliny oraz sole alkilo-trietyloamoniowe charakteryzowały się niższą toksycznością, niż ich analogi pirydyniowe i imidazoliowe. Kumar i Malhorta [121] badając cytotoksyczność i aktywność przeciwnowotworową fosfoniowych i amoniowych ILs dla linii ludzkich komórek nowotworowych raka *in vitro* 60 NCI wykazali, że długość łańcucha alkilowego w kationie odgrywa kluczową rolę w aktywności przeciwnowotworowej i cytotoksyczności tych cieczy jonowych, a badane fosfoniowe ciecze jonowe były bardziej aktywne i mniej cytotoksyczne w porównaniu do amoniowych ILs.

2. Stres oksydacyjny u roślin

Rośliny, które rosną w warunkach naturalnych bardzo często narażone są na różnego rodzaju czynniki stresowe. Stres może być wywołany przez różne czynniki środowiskowe zarówno biotyczne, jak i abiotyczne i może prowadzić do niekorzystnych dla rośliny zaburzeń fizjologicznych. W odpowiedzi na atak stresora roślina przechodzi przez fazy, które stanowią jej odpowiedź na czynniki stresowe. W syndromie reakcji stresowej możemy wyróżnić trzy główne fazy: fazę alarmu, czyli pojawienie się czynnika, który zakłóca normalne działanie komórki, fazę odporności oraz fazę wyczerpania. Jeśli stresor był zbyt silny to po pojawieniu się stresora następuje ciężkie uszkodzenie komórek, w wyniku czego roślina nie jest w stanie dalej funkcjonować. Natomiast, jeśli czynnik stresowy nie był zbyt silny, a organizm jest wyposażony w system obronny to następują kolejne fazy odpowiedzi organizmu, które mogą prowadzić do dostosowania się organizmu do warunków stresowych. Jeśli stres jest zbyt długi lub jego intensywność zwiększa się, to może dojść do wyczerpania organizmu, przez co staje się on podatny m.in. na różnego rodzaju choroby lub w najgorszym wypadku dochodzi do nieodwracalnych zmian skutkujących śmiercią organizmu. Jeśli stres ustąpi, a w organizmie nie nastąpiły nieodwracalne zmiany, to organizm może zregenerować się i funkcjonować dalej bez przeszkód (Rys.2). Organizm jest również w stanie tolerować stres (kiedy dochodzi do równowagi termodynamicznej pomiędzy środowiskiem, a komórkami roślinnymi). Może też nastąpić adaptacja i aklimatyzacja organizmu do nowych warunków, co umożliwia dalsze funkcjonowanie [122-128].



Rys. 2. Fazowy przebieg odpowiedzi organizmu na czynniki stresowe [122].

W wyniku działania różnego rodzaju czynników stresowych, w komórkach roślinnych może dochodzić do zaburzenia wytwarzania reaktywnych form tlenu (RFT, ROS, z ang. *reactive oxygen species*), czego efektem jest stres oksydacyjny. Reaktywne formy tlenu, wytwarzane są naturalnie przez cały okres życia rośliny przez różne organelle komórkowe, w wyniku reakcji inicjacji (reakcja cząsteczek nie będących wolnymi rodnikami, w wyniku której powstają wolne rodniki) czy propagacji (ilość

wolnych rodników nie ulega zmianie, zmienia się nosiciel niesparowanych elektronów). Do najważniejszych reaktywnych form tlenu należą:

- Anionorodnik ponadtlenkowy O_2^-
- Tlen singletowy 1O_2
- Rodnik hydroksylowy $\cdot HO$
- Rodnik nadrtlenkowy $ROO\cdot$
- Ozon O_3
- Nadrtlenek wodoru H_2O_2 (pomimo, że nie jest wolnym rodnikiem zaliczany jest do RFT).

Reaktywne formy tlenu występujące w niskich stężeniach są niezbędne do właściwego funkcjonowania komórki, gdyż są wykorzystywane do regulacji różnych procesów fizjologicznych tj. kiełkowanie nasion, wzrost liści i kwiatów, reakcje odpornościowe roślin, działanie fitohormonów, geotropizm, starzenie się roślin oraz sygnalizacja śmierci komórki. Pełnią one również funkcję sygnalizacyjną w komórkach. Nadprodukcja RFT, albo nieefektywne ich usuwanie może prowadzić do bardzo poważnych zaburzeń w funkcjonowaniu komórek, peroksydacji lipidów w błonach komórkowych, uszkodzenia węglowodanów, białek i barwników fotosyntetycznych, kwasów nukleinowych, uszkodzenia DNA, a w konsekwencji do przedwczesnego starzenia się roślin, a nawet do ich śmierci. Należy jednak pamiętać, że stres oksydacyjny pojawia się w komórkach roślinnych również w trakcie naturalnie zachodzących w nich procesów tj. lignifikacja, powstawanie brodawek na korzeniach roślin motylkowych czy w trakcie naturalnego starzenia się roślin [129-136].

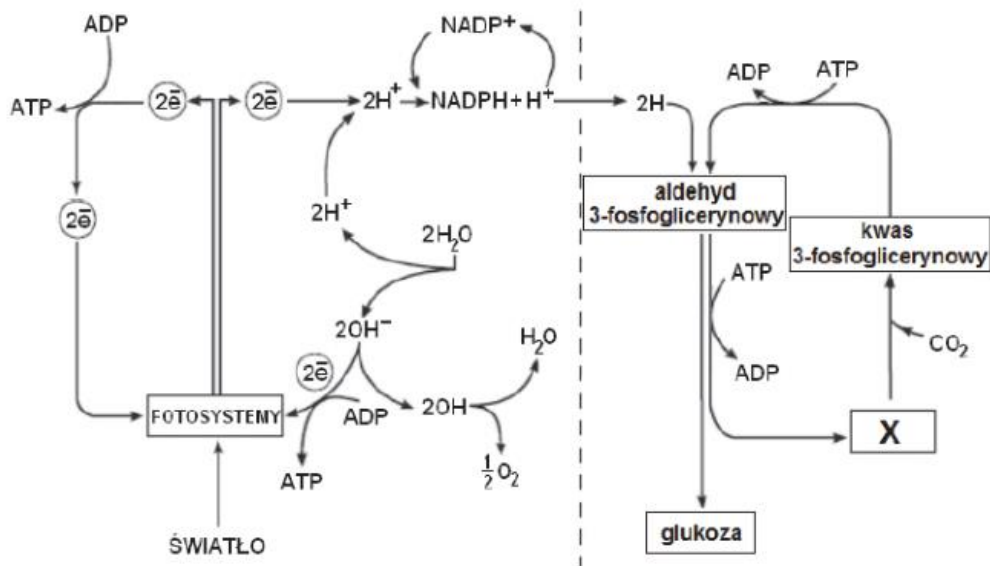
RFT pomimo, że bywają szkodliwe, są naturalnymi i często niezbędnymi komórkom produktami naturalnie zachodzących reakcji. Pełnią one bardzo ważne funkcje sygnałowe. Jednak w normalnych warunkach istnieje równowaga pomiędzy szybkością tworzenia RFT, a ich rozkładem. Toksyczne oddziaływanie RFT opiera się na ich olbrzymiej reaktywności z różnymi składnikami komórek roślinnych, co w efekcie może prowadzić m.in. do peroksydacji lipidów, depolimeryzacji polisacharydów, uszkodzenia DNA, inaktywacji enzymów i białek transportowych, utleniania związków niskocząsteczkowych czy zaburzenia struktury cytoszkieletu [134].

2.1. Mechanizm stresu oksydacyjnego u roślin

Reaktywne formy tlenu są wytwarzane w różnych organellach komórkowych. Tlen singletowy (1O_2) powstaje w chloroplastach, w fotosystemie PSII lub podczas peroksydacji nienasyconych kwasów tłuszczowych katalizowanej przez lipooksygenazę. Rodnik hydroksylowy ($\cdot HO$) powstaje podobnie jak tlen singletowy w chloroplastach w fotosystemie PSII, w reakcji Fentona oraz w wyniku inaktywacji łańcucha transportu elektronów w fotoukładzie II. $\cdot HO$ jest to jedna z najbardziej „agresywnych” form RFT, ponieważ może niszczyć strukturę DNA, może również reagować z różnymi składnikami komórki np. cukrami czy tiolami, w wyniku czego powstaje szkodliwy dla komórek roślinnych kwas mrówkowy. Nadrtlenek wodoru może

być wytwarzany w ścianie komórkowej w wyniku redukcji anionorodnika nadtlenkowego, w glioksysomach w trakcie β -oksydacji kwasów tłuszczowych, w peroksysomach w trakcie fotooddychania (utlenianie glikolanu) oraz w chloroplastach w wyniku inaktywacji łańcucha transportu elektronów. Anionorodnik nadtlenkowy może natomiast powstać w wyniku peroksydacji ściany komórkowej, w trakcie działania oksydazy NADPH w błonie komórkowej, w mitochondriach w wyniku zaburzeń w łańcuchu transportu elektronów, w chloroplastach w reakcji Mehlera oraz w fotoukładzie II w wyniku inaktywacji transportu elektronów zaistniałej wskutek nadmiaru energii świetlnej lub w wyniku działania herbicydów. Intensywność syntezy RFT uzależniona jest od stanu fizjologicznego komórki oraz od czynników środowiskowych [122,134,136-140].

Główny źródłem RFT w komórkach roślinnych są chloroplasty. Jest to miejsce, w którym zachodzi jeden z najważniejszych procesów dla roślin tzn. fotosynteza (Rys.3). Chloroplasty roślin otoczone są podwójną błoną białkowo-lipidową wewnątrz której znajdują się tylakoidy, rybosom, DNA, plastoglanule oraz ziarno skrobi asymilacyjnej. Przestrzeń pomiędzy poszczególnymi organellami w chloroplastie wypełniona jest przez matriks (białkowa stroma). W błonach tylakoidów znajdują się barwniki fotosyntetyczne oraz białka tworzące aparat fotosyntetyczny. W stromie zachodzi faza ciemniowa fotosyntezy (cykl Calvina-Bensona) natomiast w tylakoidach faza świetlna fotosyntezy (Rys.3).



Rys. 3. Uproszczony schemat przebiegu fotosyntezy. Faza jasna i ciemna zostały oddzielone przerywaną kreską [141].

W skład aparatu fotosyntetycznego wchodzi fotoukład PSI i PSII. W fazie świetlnej fotosyntezy w fotoukładzie PSII następuje rozszczepienie cząsteczek wody na protony, elektrony i tlen. RFT wytwarzane są w procesie fotosyntezy przez cały czas, jednak o ich nadprodukcji mówimy dopiero wtedy, gdy w wyniku jakichś zaburzeń faza ciemna „nie nadaża” za fazą jasną cyklu. W trakcie przechodzenia wzbudzonego stanu tripletowego cząsteczki chlorofilu ($^3Chl^*$) do stanu singletowego ($^1Chl^*$) powstaje tlen

singletowy. Anionorodnik ponadtlenkowy powstaje w fotoukładzie PSII oraz w reakcji, w której elektrony przenoszone są bezpośrednio z fotoukładu PSI na tlen (reakcja Mehlera) [122,142].

Poza chloroplastami, w liściach wolne rodniki produkowane są również przez peroksysomy. W wyniku przebiegających w peroksysomach reakcjach cyklu fotooddechowego, w trakcie którego następuje utlenianie glikolanu do glioksalanu, wytwarzany jest nadtlenek wodoru. W błonie peroksysomów wytwarzany jest natomiast anionorodnik ponadtlenkowy. W organellach tych wytwarzane są również tlenki azotu. RFT wytwarzane są ponadto w peroksysomach (glioksysomach) w trakcie β -oksydacji kwasów tłuszczowych. Anionorodnik ponadtlenkowy wytwarzany jest także w mitochondriach, co jest związane z transportem elektronów w trakcie oddychania. Anionorodnik ponadtlenkowy ulega tam dysmutacji do nadtlenku wodoru. W wyniku zaistniałego stresu, RFT są produkowane również w błonie komórkowej, co jest związane z reakcją roślin na obecność patogenów. Nadtlenek wodoru należy do jednych z najbardziej stabilnych form RFT. Posiada on zdolność swobodnego przemieszczania się przez błony biologiczne, przez co może oddziaływać z różnymi składnikami komórki i stanowi bardzo ważną cząsteczkę sygnałową komórek roślinnych [133,135,137,143,144].

W celu ochrony komórek, w roślinach funkcjonuje system antyoksydacyjny, który odpowiada za usuwanie RFT i zapobieganie powstawania stresu oksydacyjnego. W skład systemu antyoksydacyjnego wchodzi niskocząsteczkowe związki (system nieenzymatyczny), które łatwo reagują z wolnymi rodnikami oraz enzymy (system enzymatyczny) odpowiedzialne za rozkład RFT. Systemy te funkcjonują we wszystkich organellach komórkowych [144].

Do drobnocząsteczkowych antyutleniaczy zaliczyć można [134]:

- Glutation
- Chromanole: Tokoferole (głównie α - tokoferol – witamina E), tokotrienole, plastochromanol
- Karotenoidy
- Flawonoidy
- Ubichinol
- Plastochinol
- Askorbinian (ASA, witamina C).

Glutation (γ -Glu-Cys-Gly) występuje w komórkach w formie zredukowanej (GSH) oraz utlenionej (GSSG). W normalnych warunkach 90% glutationu występującego w roślinach to forma zredukowana. Występuje on w chloroplastach, mitochondriach, cytozolu, peroksysomach, wakuolach i apoplacie. Reaguje on z takimi utleniaczami jak ponadtlenki, nadtlenek wodoru, tlen singletowy czy rodniki hydroksylowe. Utlenianie cysteiny w glutationie prowadzi do powstania rodnika tiolowego, który reagując z drugą utlenioną cząsteczką glutationu daje GSSG. Glutation usuwa nadtlenki kwasów tłuszczowych, powstające w wyniku peroksydacji lipidów, stabilizuje strukturę błon komórkowych. Umożliwia on również recykлизację formy

utlenionej kwasu askorbinowego do formy zredukowanej. Odpowiedni stosunek GSH/GSSG odpowiada za komórkową homeostazę sygnału redoks [122,134,135].

Spśród chromanoli najczęściej występującym w liściach jest α - tokoferol (witamina E). Są to lipofilowe związki występujące w błonach. Chromanole (γ - tokoferol, tokotrienole) występują w nasionach oleistych. Tokoferole stabilizują strukturę błon m.in. chloroplastów, usuwając RFT m.in. tlen singletowy i rodniki nadtlenkowe lipidów [134].

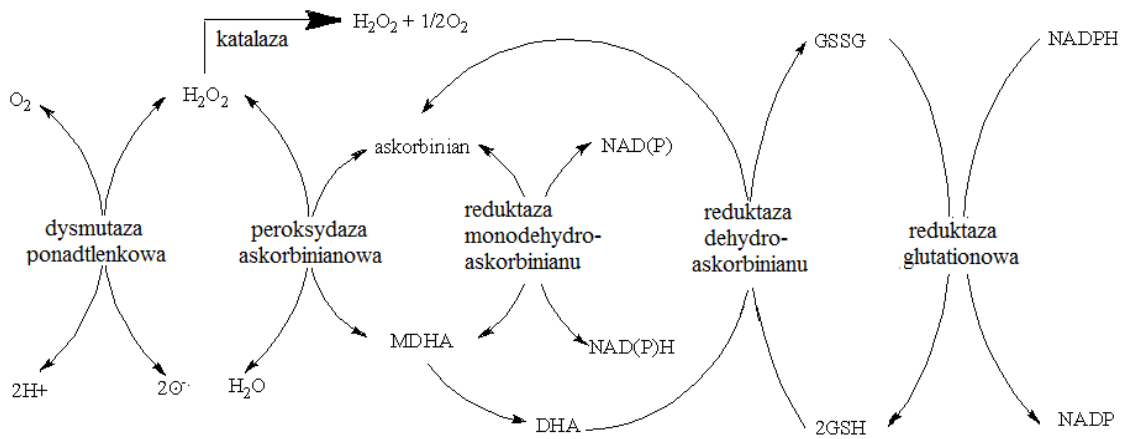
Karotenoidy to barwniki występujące w plastydach komórek zarówno fotosyntetyzujących, jak i niesyntetyzujących. Poza tym, że pomagają one w zbieraniu światła w fotosystemach, to odpowiadają one również za wygaszanie tlenu singletowego w antenach fotosyntetycznych. Reagują one także z rodnikowymi produktami peroksydacji lipidów, kończąc reakcje łańcuchową. β -karoten odpowiada za wygaszenie tripletowego chlorofilu i rozproszenie energii w postaci ciepła, co nie dopuszcza do powstawania tlenu singletowego. Bardzo ważną rolę ochronną przed stresem oksydacyjnym jest udział tych związków w cyklu ksantofilowym. W cyklu tym wiolaksantyna przekształcana jest w zeaksantynę, która może przejmować energię z wzbudzonego chlorofilu w stanie tripletowym i rozprasza ją w postaci ciepła, co ochrania fotoukład przed uszkodzeniem z powodu nadmiernego oświetlenia oraz zapobiega nadmiernemu wytwarzaniu tlenu singletowego [134,135].

Flawonoidy to barwniki występujące w chloroplastach i w wakuoli. Biorą one udział w usuwaniu m.in. H_2O_2 , 1O_2 , OH^\cdot . Mogą one również chelatować jony metali przejściowych, które biorą udział w reakcjach prowadzących do wytwarzaniu RFT [134].

Ubichinol występujący w mitochondriach i plastochinol występujący w plastydach odpowiadają za zmiatanie i wygaszanie 1O_2 oraz usuwanie wolnych rodników lipidowych O_2^\cdot .

Askorbinian (Asc, witamina C) występuje w komórce w chloroplastach, mitochondriach, cytozolu, peroksysomach, wakuolach i apopląście. Bierze on udział w cyklu Halliwella-Asady oraz w cyklu ksantofilowym. Ubichinol pełni rolę kofaktora enzymów detoksykujących RFT oraz regeneruje rodnik tokoferoksyłowy. Pomaga on również w usuwaniu rodników nadtlenkowych, OH^\cdot , 1O_2 , O_2^\cdot oraz ONOOH [137,138,145,146].

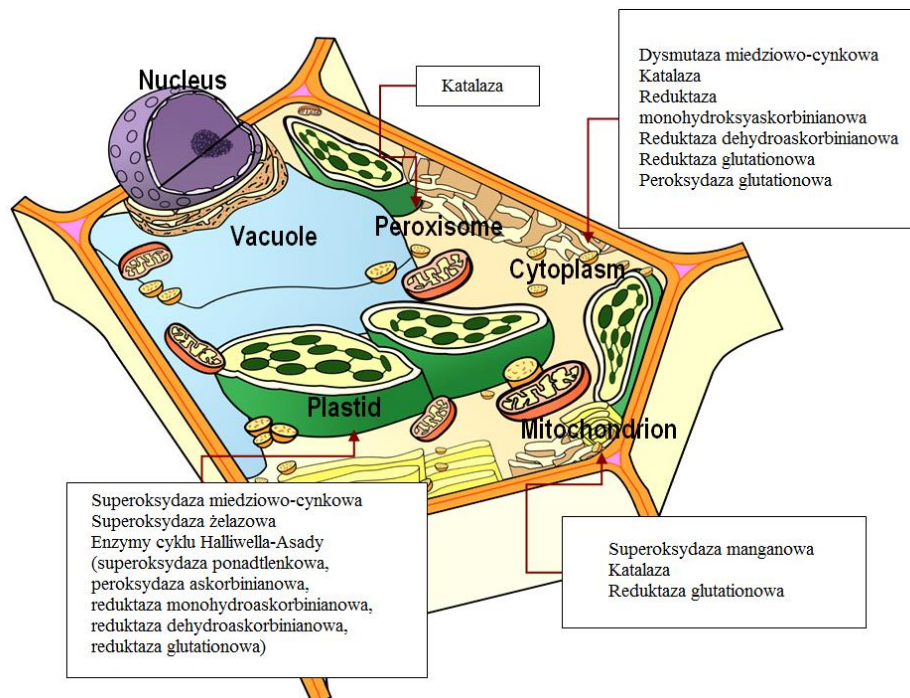
W celu zapobiegania nadprodukcji RFT rośliny wykształciły również enzymatyczny system antyoksydacyjny, którego celem jest usuwanie wolnych rodników. Do enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego należą enzymy bezpośrednio usuwające RFT oraz enzymy cyklu Halliwella-Asady (cykl glutationowo-askorbinianowy) (Rys.4).



Rys. 4. Cykl Halliwella-Asady [146].

Enzymy antyoksydacyjne występujące w roślinach to:

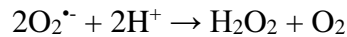
- Dysmutazy ponadtlenkowe (SOD)
- Peroksydaza glutationowa (GPX)
- Peroksydaza askorbinianowa (APX)
- Katalaza (CAT)
- Reduktaza glutationowa (GR)
- Reduktaza dehydroksyaskorbinianu (DHAR)
- Reduktaza monodehydroksyaskorbinianu (MDHAR) (Rys. 5).



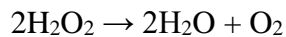
Rys. 5. Lokalizacja enzymów antyoksydacyjnych w komórce [147].

Pierwszą linię obrony ochrony przed toksycznym działaniem O_2^- stanowią dysmutazy ponadtlenkowe. Dysmutazy ponadtlenkowe (SOD, E.C. 1.15.1.1) to

metaloproteiny, które ze względu na rodzaj metalu występującego w centrum aktywnym można podzielić na: dysmutazy żelazowe (FeSOD), dysmutazy manganowe (MnSOD) oraz dysmutazy miedziowo-cynkowe (Cu,ZnSOD). Izoformy te charakteryzuje różna wrażliwość na nadtlenek wodoru (H₂O₂) i cyjanki (HCN). Za najbardziej aktywną izoformę SOD uznaje się Cu,ZnSOD. Enzymy te występują w cytozolu (Cu,ZnSOD), chloroplastach (Cu,ZnSOD i FeSOD) i mitochondriach, glioksysomach i peroksysomach (MnSOD). Katalizują one reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego, co prowadzi do powstania nadtlenu wodoru i tlenu cząsteczkowego [134,136,137]:

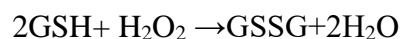


Kolejnym enzymem szlaku antyoksydacyjnego jest katalaza (CAT, EC 1.11.1.6). Enzym ten odpowiada za dysmutację nadtlenu wodoru:



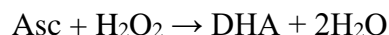
Katalaza posiada również właściwości peroksydazowe tzn. może utleniać np. etanol, metanol, formaldehyd, chinony i azotyny. Enzym ten występuje w największych ilościach w peroksysomach, a ponadto w mitochondriach i glioksysomach. Znanych jest kilka izoform CAT. Enzym ten należy do metaloenzymów, a dokładnie do hemoprotein (w centrum aktywnym zawiera żelazo). Katalazy mogą również występować w formie, w której w centrum aktywnym zamiast żelaza występuje mangan [134,137,148,149].

W usuwaniu nadtlenu wodoru z komórek, z katalazą współdziałają peroksydazy (POX). Enzymy te katalizują rozkład nadtlenu wodoru przy jednoczesnym utlenianiu różnych substancji organicznych i nieorganicznych. Peroksydazy to hemoproteiny. Enzymy te, ze względu na funkcje które pełnią można podzielić na dwie grupy: peroksydazy biorące czynny udział w typowych procesach fizjologicznych tj. opadanie liści, kiełkowanie czy dojrzewanie owoców oraz takie, które odpowiadają za usuwanie RFT (peroksydaza gwajakolowa, peroksydaza askorbinianowa oraz peroksydaza glutationowa). Peroksydaza glutationowa (GPX, EC 1.11.1.9) to enzym występujący głównie u zwierząt, ale w komórkach roślinnych również jest spotykany. Enzym ten katalizuje redukcję H₂O₂ oraz hydroksynadtlenków lipidów [137]:



Peroksydaza gwajakolowa (POD, EC 1.11.1.7) to glikoproteina znajdująca się w ścianie komórkowej, cytozolu, wakuoli oraz w przestrzeni międzykomórkowej. Wykazuje ona właściwości antyoksydacyjne, a ponadto bierze udział w procesach obrony przed patogenami, lignifikacji oraz biosyntezie etylenu. Pomimo, że informacje o tym enzymie są nieliczne, to Noctor i Foyer uznali peroksydazę gwajakolową za najważniejszy enzym antyoksydacyjny w komórkach roślinnych [150,151]. Peroksydaza askorbinianowa (APX, EC 1.11.1.11) występuje głównie w chloroplastach, a ponadto w cytozolu, wakuoli i apoplacie. Enzym ten jest wrażliwy na związki

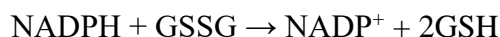
inaktywujące grupy tiolowe. APX jako donora elektronów wykorzystuje askorbinian [135,138]:



Kolejnym enzymem w cyklu Halliwella-Asady bezpośrednio współpracującym z APX jest reduktaza dehydroaskorbinianowa (DHAR, EC.1.8.5.1), która regeneruje askorbinian [135]:



Za regenerację GSH kosztem NADPH odpowiada reduktaza glutationowa (GR, EC. 1.6.4.2) [135]:



Z peroksydazą askorbinianową współpracuje również reduktaza monodehydroaskorbinianowa (MDHAR, EC. 1.6.5.4), która podobnie jak DHAR uczestniczy w regeneracji askorbinianu [122]:



Za reakcję redukcji tlenu do wody, z ograniczeniem drogi cytochromowej (np. w wyniku hamowania jej przez NO) w mitochondriach, odpowiada alternatywna oksydaza (AOX). Oksydaza alternatywna przenosi elektrony z ubichinolu na tlen pomijając kompleks III i IV natomiast energia uwolniona w wyniku tej reakcji zostaje rozproszona w postaci ciepła. Enzym ten jest niewrażliwy na inhibitory drogi cytochromowej tj. cyjanek, antymycynę czy siarkowodór [137,152,154].

2.2. Przyczyny stresu oksydacyjnego u roślin

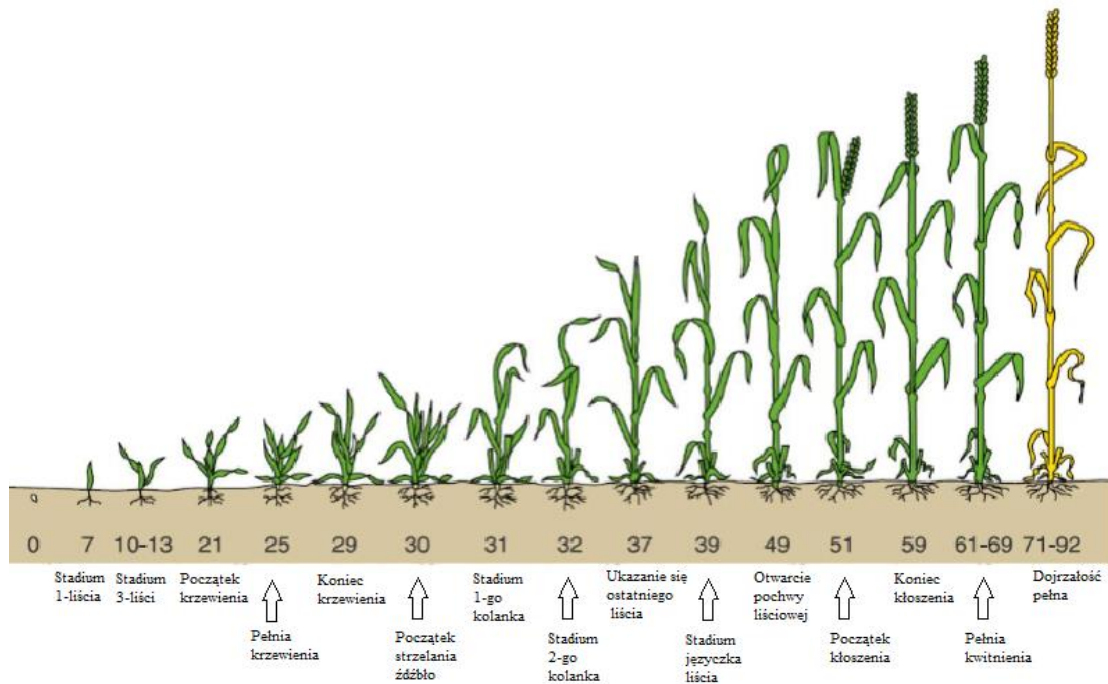
Stres oksydacyjny w komórkach może być powodowany przez wiele różnych czynników. Podział czynników stresowych, które mogą mieć wpływ na wzrost i rozwój roślin został przedstawiony w tabeli 1.

Tabela 1. Stresowe czynniki środowiska [122].

CZYNNIKI STRESOWE			
Czynniki abiotyczne		Czynniki biotyczne	
Promieniowanie	niedobór nadmiar UV	Rośliny	zagęszczenie alelopatia rośliny pasożytnicze
Temperatura	wysoka chłód mróz	Mikroorganizmy	wirusy bakterie grzyby
Woda	susza nadmiar wody	Zwierzęta	zgryzanie, żerowanie deptanie
Gazy	niedobór O ₂ gazy wulkaniczne	Anropogeniczne	pasożytnictwo pożary pestycydy ubicie gleby zanieczyszczenia przemysłowe pole magnetyczne promieniowanie jonizujące
Minerały	niedobór nadmiar zachwianie równowagi zasolenie metale ciężkie zakwaszenie alkalizacja		
Mechaniczne	wiatr zasypanie pokrywa śnieżna powłoka lodowa		

Wpływ czynników stresowych na rośliny może być odwracalny lub nieodwracalny, w zależności od czasu działania danego czynnika oraz od jego intensywności. Czynniki te mogą mieć duży wpływ na wzrost i rozwój roślin, powodując zaburzenia w ich funkcjonowaniu, co w konsekwencji prowadzi do mniejszego plonowania, a w najgorszych przypadkach może powodować śmierć roślin. Czynniki stresowe dla roślin mogą oddziaływać jednocześnie między sobą, co może powodować ich jeszcze silniejsze oddziaływanie na rośliny [122,154].

Wrażliwość rośliny na czynniki stresowe i reakcja na nie, jest w dużym stopniu uzależniona od tego, w jakiej fazie rozwojowej znajduje się roślina w momencie kiedy dany czynnik zaczyna na nią oddziaływać. Fazy rozwojowe zbóż w oparciu o obowiązującą w Unii Europejskiej skalę BBCH (*Biologische Bundesantalt, Bundessortenamt and Chemische Industrie*) zostały przedstawione na rysunku 6.



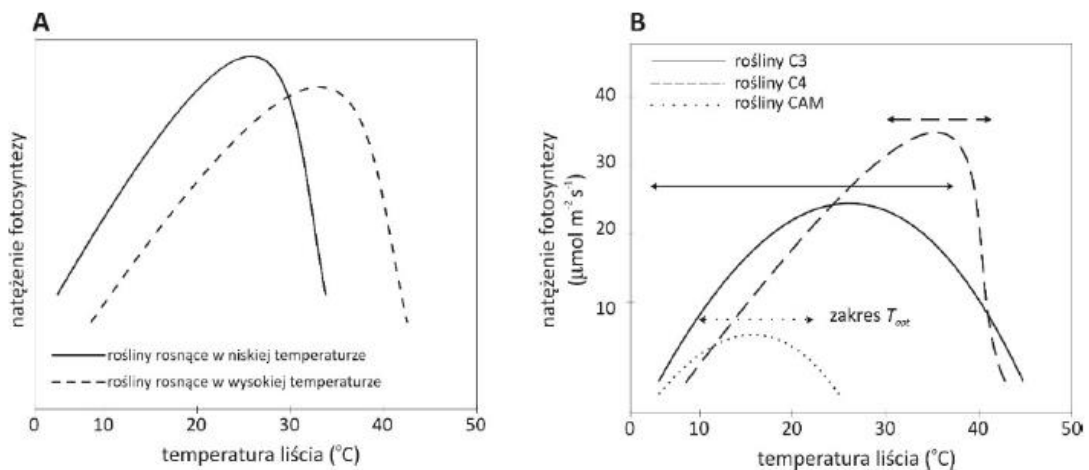
Rys. 6. Fazy rozwojowe zbóż według skali BBCH [155].

Jednym z powodów pojawiania się stresu oksydacyjnego jest zbyt silne promieniowanie – stres świetlny. Rośliny otrzymują wtedy więcej światła niż są w stanie wykorzystać w procesie fotosyntezy. Powoduje to fotoinhibicję procesu fotosyntezy tzn. zaburzenie w fotosyntetycznym transporcie elektronów oraz zniszczeniem fotosystemu PSII. W przypadku długotrwałej fotoinhibicji nadmiar wytworzonych RFT może prowadzić do zniszczenia barwników fotosyntetycznych oraz lipidowych składników błon, a co za tym idzie do obniżenia intensywności fotosyntezy oraz uszkodzenia tkanek, czego widocznym objawem są bezbarwne plamy pojawiające się na liściach wystawionych na zbyt silne promieniowanie. Rośliny starają się funkcjonować pomimo nadmiernego oświetlenia, m.in. poprzez rozproszenie nadmiaru energii w cyklu ksantofilowym, co umożliwi dostosowanie aparatu fotosyntetycznego do najbardziej optymalnego poziomu jego aktywności pomimo nadmiernego oświetlenia. W wyniku tego działania następuje jednak zwiększona synteza m.in. β -karotenu, zeaksantyny, luteiny, neoksantyny, co odbywa się kosztem syntezy chlorofilu *a* i *b* oraz powoduje wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Rośliny posiadają również specyficzne mechanizmy, które jeśli to tylko możliwe, w wyniku procesu restytucji mogą częściowo lub w pełni przywrócić sprawność procesu fotosyntezy [122,156,157].

Stres oksydacyjny u roślin może być również wywołany zbyt wysoką lub zbyt niską temperaturą. Mówimy wtedy o stresie termicznym. Stres termiczny i to jakie skutki wywoła, związane jest ściśle z wysokością temperatury i okresem jej działania. Należy jednak pamiętać, że to, czy w roślinach wystąpi stres spowodowany daną temperaturą, czy nie, będzie związane również z gatunkiem rośliny, jej przystosowaniem do środowiska, w którym żyje oraz etapem rozwoju rośliny. Rośliny C4 występują w strefach klimatycznych o wyższych temperaturach i większym nasłonecznieniu, są lepiej przystosowane do tych warunków. Rośliny CAM

(zasiedlające rejony pustynne) przystosowane są do długich okresów suszy oraz dużych wahań temperaturowych w cyklu dzień-noc.

W wyniku zbyt wysokiej temperatury zwiększa się płynność błon komórkowych, następuje zakłócenie w funkcjonowaniu kanałów jonowych i wodnych, czy zakłócenie aktywności PSII w błonach tylakoidów, co powoduje zaburzenie w procesie fotosyntezy. Następują również zaburzenia w wielu innych procesach odpowiadających za prawidłowe funkcjonowanie rośliny. W zbyt wysokiej temperaturze może również dojść do denaturacji enzymów znajdujących się w stromie chloroplastów, co prowadzi do nadprodukcji RFT. Również zbyt niska temperatura powoduje w pierwszej kolejności uszkodzenie błon tylakoidów, a przede wszystkim fotoukładu PSII. Wpływ temperatury na natężenie procesu fotosyntezy został przedstawiony na rysunku 7. Zaburzeniu ulegają również różne procesy metaboliczne [122,158]. Stres spowodowany zbyt niską temperaturą można podzielić na stres spowodowany chłodem oraz stres związany z zamarzaniem. W roślinach w wyniku zamarzania i rozmarzania obserwujemy zjawisko chemoluminescencji spowodowanej wytwarzaniem RFT. Wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych powoduje usuwanie RFT i wzrost odporności komórek na stres związany ze zbyt niską temperaturą [147].



Rys. 7. Wpływ temperatury na natężenie fotosyntezy u roślin rosnących w niskiej i wysokiej temperaturze (A) oraz dla roślin C3, C4 i CAM (B) [158].

Bardzo ważnym czynnikiem mającym wpływ na wzrost i rozwój roślin, jest dostępność do wody. Woda w roślinach ma wpływ na rozpuszczalność składników pokarmowych oraz ich transport, regulację temperatury, bierze również udział w procesie oddychania i fotosyntezy oraz różnorodnych procesach biochemicznych, co w bezpośredni sposób przekłada się na wielkość i jakość uzyskanych plonów. Niedobór, jak i nadmiar wody, w skrajnych przypadkach mogą prowadzić do śmierci rośliny. Zapotrzebowanie roślin na wodę jest ściśle powiązane z gatunkiem i fazą rozwojową, w jakiej w danym momencie znajdują się rośliny. Istnieją rośliny bardzo odporne na niedobór wody np. kserofity, jak również takie, które mogą żyć na glebach nasiąkniętych wodą np. rośliny bagienne, ryż, wierzba, olcha czy namorzyny. Okres największego zapotrzebowania na wodę przypada zazwyczaj na czas intensywnego

wzrostu i rozwoju wegetatywnego roślin. Dla zbóż okresem krytycznym – kiedy zapotrzebowanie roślin w wodę jest największe jest faza kłoszenia, wykształcania ziaren i ich nalewania. Według Ostrowskiego i wsp. [158] zapotrzebowanie różnych zbóż na opady w okresie wiosenno-letniej wegetacji waha się w granicach od 250 do 370 mm. Wymagania te uzależnione są od gatunku roślin, warunków meteorologicznych i glebowych. Zarówno niedobór, jak i nadmiar wody może wywoływać niekorzystne zmiany u roślin. W wyniku stresu wodnego wywołanego niedoborem wody następuje zahamowanie wzrostu roślin, wzrost masy korzeni w stosunku do masy roślin, zahamowanie intensywności fotosyntezy oraz stymulację syntezy kwasu abscysynowego (ABA) z karotenoidów w korzeniach, który transportowany do różnych organów roślin powoduje m.in. ograniczenie wzrostu pędu i liści oraz zamykanie aparatów szparkowych. Długotrwały niedobór wody w środowisku może prowadzić do przedwczesnego starzenia się roślin, a nawet ich śmierci [122,160]. Równie groźny jak niedobór wody dla roślin może być również jej nadmiar. Nadmiar wody w glebie może powodować wymywanie składników pokarmowych z gleby przez co stają się one mniej dostępne dla roślin. Degradacja powierzchniowej warstwy gleby oraz podniesienie się poziomu wód gruntowych może prowadzić do uszkodzenia systemu korzeniowego roślin. Zbyt intensywne opady mogą prowadzić również do wytworzenia warstwy nieprzepuszczalnej lub namulenia warstwy gleby, czego efektem może być zaburzenie stosunków wodno-powietrznych i niedotlenienie systemu korzeniowego.

Niedobór tlenu w glebie prowadzi do stresu tlenowego u roślin. Podobnie jak w przypadku niedoboru wody, również w warunkach niedoboru tlenu w podłożu, następuje wzmożona synteza kwasu abscysynowego i etylenu, co prowadzi do zamykania aparatów szparkowych. Spadek zawartości tlenu poniżej 2% (anoksja) powoduje, że oksydaza cytochromowa przestaje funkcjonować, a metabolizm rośliny przestawia się z oddychania tlenowego na szlak anaerobowy utleniania glukozy tzn. fermentację. Charakterystycznym objawem stresu tlenowego jest wzrost zawartości etanolu. W roślinach wrażliwych na deficyt tlenu w glebie spowodowany zatopieniem, zakwaszenie cytoplazmy następujące w tych warunkach prowadzi do degradacji mitochondriów, zahamowania syntezy białek, zahamowania podziałów i wydłużania się komórek oraz zakłócenia transportu jonów przez błony. Stres ten może objawiać się chlorozą, epinastią obumieraniem liści, zrzucaniem liści oraz zahamowaniem wzrostu roślin. W wyniku niedoboru tlenu w podłożu, w roślinie może dojść również do zaburzenia homeostazy. Zbyt duże opady powiązane ze zbyt wysoką temperaturą mogą prowadzić również do rozwijania się wielu chorób grzybowych. Nagłe zwiększenie dostępności tlenu również może spowodować stres u roślin (stres poanaksacyjny), który wywołany jest nadmiernym powstawaniem reaktywnych form tlenu [122,161].

Jednym z najważniejszych abiotycznych czynników ograniczających wzrost i rozwój roślin na całym świecie i wywołującym u nich stres oksydacyjny jest zasolenie. Stres solny ma miejsce w momencie, gdy w glebie następuje nadmierne nagromadzenie się soli rozpuszczalnych. Ryzyko to zwiększa się wraz ze zmniejszaniem się zasobów słodkiej wody, co może prowadzić do zasolenia gleby, a w efekcie do zmniejszenia się plonu roślin rosnących na takich terenach. Nazar i wsp. [162] podają, że zasolenie

wpływa negatywnie na żyzność gleby i jest jednym z najpoważniejszych czynników wpływających na wzrost i wydajność roślin oraz jakość gleby. Manchanda i Garg [163] uważają, że nadmierne zasolenie może być powodem utraty nawet 50% żyznych gruntów do połowy XXI wieku. Rośliny, które naturalnie rosną na terenach zasolonych to halofity. Rośliny te dzięki wysokiemu ciśnieniu osmotycznemu soku komórkowego, zdolności wydalania nadmiaru soli poprzez gruczoły wydzielnicze na liściach i łodygach oraz gromadzeniu wody w mięsistych organach dostosowały się do rozwoju w środowisku o dużym zasoleniu. Stres solny może powodować zaburzenia homeostazy wodnej (stres osmotyczny) oraz homeostazy jonowej u roślin, co z kolei prowadzi do uszkodzenia struktury komórek oraz zaburzenia wzrostu i rozwoju roślin. Zmianie ulegają właściwości błon komórkowych oraz pojawiają się zakłócenia w transporcie jonów i metabolitów. Zamknięcie aparatów szparkowych oraz negatywny wpływ jonów na chloroplasty powoduje zaburzenie w procesie fotosyntezy. Transport elektronów, fosforylacja oraz metabolizm fotosyntetyczny węgla ulegają zakłóceniu. Podobnie jak inne stropy abiotyczne, stres solny prowadzi do stresu oksydacyjnego w komórkach roślin. Nadprodukcja reaktywnych form tlenu może prowadzić do peroksydacji lipidów, inaktywacji enzymów, degradacji białek czy denaturacji cząsteczek DNA [122,164-171]. Czynnikiem, mającym duże znaczenie w mechanizmie tolerancji soli przez rośliny jest zdolność ich komórek do osmoregulacji. W odpowiedzi na zaburzenie równowagi wodnej, komórka przeciwdziała utracie wody zwiększając stężenie substancji osmotycznie czynnych tj. prolina, polialkohole: sorbitol, glicerol, mannitol, cukry czy betaina glicynowa [170,172,173].

Rośliny, podobnie jak i inne organizmy są narażone również na różnego rodzaju zanieczyszczenia środowiska. Zanieczyszczenia te mogą być pochodzenia naturalnego np. wydzielanie siarkowodoru na terenach bagiennych, wulkaniczna emisja SO_2 , czy powstawanie tlenków azotu podczas wyładowań atmosferycznych oraz związane z działalnością człowieka np. środki ochrony roślin, metale ciężkie, nawozy mineralne, zanieczyszczenie substancjami ropopochodnymi, w tym wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (WWA) oraz szereg przeróżnych substancji przedostających się do środowiska w wyniku procesów przemysłowych. Substancje te mogą znajdować się zarówno w powietrzu, w wodzie, jak i w glebie. W wyniku działania różnych polutantów może dochodzić do akumulacji ich oraz ich pochodnych w tkankach roślin, zmniejszenia lub zwiększenia aktywności niektórych enzymów, zaburzenia fotosyntezy, zaburzeń w otwieraniu i zamykaniu aparatów szparkowych, zmniejszenia przemieszczania produktów fotosyntezy do korzeni oraz nadprodukcji RFT. Intensywne i lokalne występowanie polutantów może powodować zmiany chlorotyczne i nekrotyczne, odbarwianie liści, a w skrajnych przypadkach obumieranie całej rośliny. W wyniku działania polutantów może dochodzić również do uszkodzeń chronicznych, których efektem jest zmniejszona rozrodczość i produktywność roślin. Np. kwaśne deszcze powodują wymywanie z liści Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} i Na^+ . Brak mikroelementów powoduje chlorozę, a zbyt niskie pH powoduje zanik aktywności enzymów fotosyntetycznych. Zahamowanie fotosyntezy skutkuje spowolnieniem wzrostu roślin oraz osłabieniem organizmu, który staje się bardziej podatny na choroby,

ataki pasożytów oraz zmniejszeniem odporności na różne stresy abiotyczne [122,174-179].

W wyniku szybkiego rozwoju przemysłu i transportu coraz większym problemem staje się zanieczyszczenie metalami ciężkimi takimi jak kadm, chrom, mangan, żelazo, arsen, fluor, rtęć, ołów, nikiel i cynk. Zbyt wysokie stężenie metali ciężkich może prowadzić do inaktywacji centrum reakcji fotosystemu II, zaburzenia w funkcjonowaniu błon komórkowych, transporcie elektronów oraz transporcie wody, czy inaktywację enzymów biorących udział w regulacji metabolizmu komórek. Skutkuje to zmniejszeniem bilansu energetycznego komórek, zaburzeniami w żywieniu mineralnym, zaburzeniami w procesie fotosyntezy oraz redukcją wzrostu. W wyniku działania metali ciężkich następuje nadprodukcja RFT. Metale przejściowe, takie jak żelazo czy miedź mogą uczestniczyć w produkcji RFT w reakcji Fentona i Habera-Weissa, czy inicjować niespecyficzną peroksydację lipidów. Zbyt duża ilość RFT, takich jak anionorodnik ponadtlenkowy czy nadtlenoazotyn może prowadzić do uszkodzenia enzymów antyoksydacyjnych tj. CAT czy Mn-SOD. Nadmiar ołowiu w roślinach prowadzi do nadprodukcji H_2O_2 w peroksysomach i mitochondriach [122,138,180-185].

Obecnie, do powszechnie występujących zanieczyszczeń, które mogą stanowić zagrożenie dla środowiska, w tym również dla roślin, należy zaliczyć środki ochrony roślin (pestycydy) stosowane w rolnictwie, ogrodnictwie czy leśnictwie. Pestycydy to skuteczny i szybki sposób na pozbycie się niepożądanych organizmów. Stosowanie środków ochrony roślin doprowadziło do znacznego i szybkiego rozwoju rolnictwa i zwiększenia upraw oraz plonów, jednak należy pamiętać, że preparaty te mogą mieć również niekorzystny wpływ na rośliny. Do pestycydów zaliczamy m.in. herbicydy, fungicydy, bakteriocydy czy regulatory wzrostu roślin. Herbicydy mogą wnikać do roślin poprzez korzenie i/lub przez liście. Istnieje również możliwość przedostania się herbicydów przez pędy, a nawet obserwowane jest pobieranie ich przez pęczniejące nasiona. Herbicydy możemy podzielić na selektywne oraz totalne. Mechanizm działania herbicydów polega na zakłócaniu reakcji biofizycznych lub biochemicznych zachodzących w roślinie, związanych z przemianą materii oraz różnymi procesami życiowymi zachodzącymi w komórkach roślin. Rozróżnić można inhibitory procesu fotosyntezy (a wśród nich inhibitory: transportu elektronów, połączeń i fosforylacji fotosyntetycznej, akceptacji elektronów oraz procesu oddychania) oraz inhibitory procesów biosyntezy (wśród nich inhibitory: biosyntezy barwników, biosyntezy kwasów tłuszczowych i lipidów, biosyntezy aminokwasów i białek oraz podziału komórek i wzrostu merystemów). Działanie herbicydów może prowadzić do stresu oksydacyjnego u roślin. Dla przykładu, działanie herbicydów fenoksyoctowych np. MCPA prowadzi do uszkodzenia chloroplastów, uszkodzenia membran i integralności układu naczyniowego, przedwczesnego starzenia się roślin, a w konsekwencji ich śmierci. Należy pamiętać, że oprócz substancji aktywnej w skład tych związków wchodzi substancje pomocnicze, emulgatory czy stabilizatory, które również mogą mieć wpływ na środowisko. Pomimo przepisów Polskich, jak i Unijnych, mających na celu minimalizację ryzyka wynikającego ze stosowania tego typu związków, zanieczyszczenie środowiska środkami ochrony roślin stanowi jednak ciągle realny

problem. Właściwy dobór dawki herbicydu i właściwe przeprowadzenie zabiegu pozwala na osiągnięcie pożądanego skutku. Niestety selektywność herbicydów nie jest do końca całkowita i mogą one zniszczyć również rośliny uprawne. Ważnym parametrem jest trwałość herbicydów w środowisku. Rozróżnić tutaj możemy herbicydy trwałe (ulegają rozkładowi w ciągu 2-3-lat w 75-100%), umiarkowanie trwałe (ulegają rozkładowi w ciągu 1-18 miesięcy) i nietrwałe (ulegają rozkładowi do 12 tygodni). Istnieją jednak związki, których trwałość sięga wielu dziesiątek lat. Należy jednak pamiętać, że na trwałość herbicydów w środowisku duży wpływ mają m.in. warunki klimatyczne oraz rodzaj gleby, na której preparat został zastosowany. Pozostałości substancji aktywnych w glebie mogą powodować uszkodzenia wrażliwych roślin następczych lub zostać wymyte do wód gruntowych i zanieczyścić je. Trwałość herbicydów, ich różnokierunkowe, trudne do kontrolowania przemiany w środowisku, czy migracja, mogą stanowić duże zagrożenie zarówno dla roślin, jak i dla zwierząt i ludzi. Istnieje również ryzyko występowania pozostałości herbicydów w roślinach uprawnych, co może mieć bezpośredni wpływ na zdrowie zwierząt i ludzi. Istotnym problemem w stosowaniu herbicydów jest również uodparnianie się chwastów, co wymusza konieczność zastosowania większych dawek preparatów lub poszukiwania kolejnych związków aktywnych, wykazujących wpływ na dane gatunki chwastów [186-189].

Negatywny wpływ na rośliny wywołują również inne związki chemiczne, takie jak np. ciecze jonowe, wprowadzone przez człowieka do środowiska. Ciecze jonowe dzięki swoim doskonałym właściwościom znalazły już zastosowanie w wielu dziedzinach przemysłu, a ich kolejne możliwości zastosowań są cały czas badane. Istnieje wiele prac mówiących o fitotoksyczności ILs, których oddziaływanie na rośliny prowadziło do nadprodukcji RFT i zaburzeń w działaniu systemu antyoksydacyjnego [97,99,108,190-192].

CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

1. Materiał i metody badań

1.1. Charakterystyka materiału roślinnego

Do przeprowadzenia badań, dotyczących określenia wpływu cieczy jonowych na wzrost i rozwój roślin, wybrany został jęczmień jary.

Jęczmień (*Hordeum* L.) to jedno z najstarszych i najważniejszych zbóż na świecie. Zboże to jest wykorzystywane przez ludzi od około 15000 lat, a uprawiane od 10000 lat. Pierwsze uprawy jęczmienia pojawiły się w dorzeczu Tygrysu i Eufratu oraz na Bliskim Wschodzie już w okresie neolitu. Jęczmień należy do rodziny wiechlinowatych (*Poaceae*). Rodzina ta obejmuje ok. 40 gatunków traw jednorocznych i trwałych. Ze wszystkich dostępnych gatunków jęczmienia najbardziej rozpowszechnionym i najczęściej wykorzystywanym jest jęczmień zwyczajny (*Hordeum vulgare* L.) [193,194].

Jęczmień ze względu na czas wysiewu dzielimy na ozimy – wysiewany jesienią oraz jęczmień jary – wysiewany wiosną. Ziarno jęczmienia, w zależności od odmiany może być wykorzystywane do celów browarniczych (produkcja piwa, szkockiej i irlandzkiej whisky), paszowych oraz spożywczych (kasze, płatki, otręby, mąka, zielony jęczmień). Jęczmień pastewny od browarnego różni się przede wszystkim zawartością białka, która jest o około 10% mniejsza w ziarnach jęczmienia typu browarnego od tej w ziarnach jęczmienia typu pastewnego. Skład chemiczny ziarna różni się znacznie w zależności od tego, czy jest to ziarno oplewione czy nie, zależy również od cech dziedzicznych oraz warunków środowiska. W skład ziarna jęczmienia wchodzi białko, tłuszcz, węglowodany (przyswajalne i nieprzyswajalne), składniki mineralne (makroelementy, mikroelementy i ultraelementy), witaminy (tiamina, ryboflawina, witamina B₆, niacyna, kwas D-pantotenowy, kwas foliowy, witamina C, witamina E (jęczmień, jako jedyne zboże zawiera wszystkie natywne formy witaminy E)) oraz związki fenolowe. W ostatnim czasie dużą popularnością cieszy się zielony jęczmień. Dzięki zbiorowi młodych roślin we wczesnym etapie rozwoju uzyskiwany jest produkt o wysokiej zawartości witamin oraz innych substancji biologicznie czynnych [194-196].

Jęczmień uprawiany jest w wielu krajach na świecie, w tym również w Polsce. Do głównych producentów jęczmienia zalicza się Niemcy, Francję, Hiszpanię, Kanadę, USA oraz kraje byłego Związku Radzieckiego. Według danych GUS [197], jęczmień jary należy do najczęściej uprawianych zbóż jarych w Polsce. W 2016 roku ogólna powierzchnia upraw tego zboża w naszym kraju wyniosła 778 tys. ha. Jest on również często stosowany do wysiewu w mieszkankach zbożowych. Około 2/3 produkowanego w Polsce jęczmienia przeznaczone jest na pasze.

Jęczmień jary jest zbożem o słabo rozwiniętym systemie korzeniowym (jego korzenie rozwijają się najpłycej ze wszystkich zbóż), a ponadto charakteryzuje się krótkim okresem wegetacji, co powoduje, że ma dość duże wymagania glebowe. Optymalna gęstość wysiewu dla jęczmienia jarego wynosi 280 – 400 nasion na m². Jęczmień toleruje zasolenie gleby i jej zasadowy odczyn, natomiast źle znosi zakwaszenie gleby i zbyt dużą wilgotność gleb, na których jest uprawiany. Ponadto

warunki, w których jest uprawiany jęczmień mają duży wpływ na skład chemiczny ziarna i jego wartości odżywcze. Optymalny zakres temperatur kiełkowania wynosi 19-27 °C.

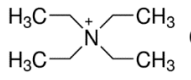
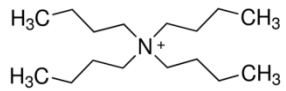
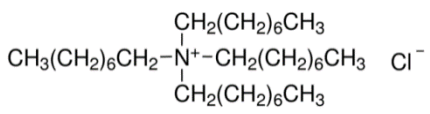
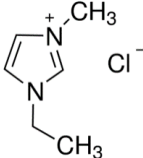
Do badań wybrano jęczmień jary odmiany Suveren. Nasiona zostały zakupione w Zakładzie Hodowlano-Produkcyjnym w Nieznanicach, wchodzącym w skład spółki: Małopolska Hodowla Roślin – HBP Sp. z o.o. Ta odmiana jęczmienia jarego należy do odmian typu paszowego, polecanych do uprawy na terenie naszego kraju. W 2014 roku odmiana ta został uhonorowana złotym medalem Polagra. Odmiana Suveren charakteryzuje się stosunkowo wczesnym terminem kłoszenia i dojrzewania. Według danych prezentowanych przez Hodowlę Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR, jest to odmiana stosunkowo odporna na suszę, wykazująca średnią tolerancję na zakwaszenie gleby oraz średnią odporność na wyleganie.

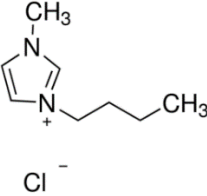
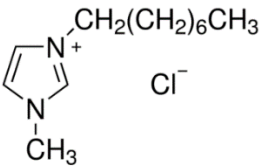
1.2. Metodyka badań

1.2.1. Ciecze jonowe

Do badań wybrano ciecze jonowe: chlorek tetraetyloamoniowy ([TEA][Cl]) (czystość $\geq 98\%$), chlorek tetrabutylamoniowy ([TBA][Cl]) (czystość $\geq 97\%$), chlorek tetraoktyloamoniowy ([TOA][Cl]) (czystość $\geq 97\%$), chlorek 1-etylo-3-metyloimidazoliowy (EMIM)[Cl] (czystość $\geq 95\%$), chlorek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy ([BMIM][Cl]) (czystość $\geq 98\%$) zakupione w firmie Sigma-Aldrich Chemical Co oraz chlorek 1-metylo-3-oktyloimidazoliowy ([OMIM][Cl]) (czystość $\geq 97\%$) zakupiony w firmie Fluorochem. Podstawowe informacje na temat badanych związków zostały przedstawione w tabeli 2.

Tabela 2. Wybrane informacje na temat związków wykorzystanych w badaniach [opracowanie własne na bazie kart charakterystyki].

Nazwa związku	wzór	Temperatura topnienia	Stan skupienia
Chlorek tetraetyloamoniowy		360 °C	Ciało stałe
Chlorek tetrabutylamoniowy		47-50 °C	Ciało stałe
Chlorek tetraoktyloamoniowy		50-54 °C	Ciało stałe
Chlorek 1-etylo-3-metyloimidazoliowy		77-79 °C	Ciało stałe

Chlorek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy		~70 °C	Ciało stałe
Chlorek 1-metylo-3-oktyloimidazoliowy		-	Ciecz

Chlorek tetraetyloamoniowy jest związkiem wykorzystywanym w badaniach neuronaukowych oraz nowotworów (heptoblastoma) u ludzi. Związek ten wykorzystywany jest również w syntezie chemicznej oraz elektroforezie kapilarnej [198-200].

Chlorek tetrabutylamoniowy wykorzystywany jest w syntezie chemicznej m.in. w reakcji elektropolimeryzacji [201].

Chlorek tetraoktyloamoniowy może być wykorzystywany do otrzymywania naproksenowej elektrody selektywnej [202].

Chlorek 1-etylo-3-metyloimidazoliowy może być wykorzystywany do wytwarzania stopionych soli, które są użyteczne w badaniach nad elektroosadzaniem [203-205]. Podjęto również próbę wykorzystania [EMIM][Cl] jako nośnika dla żywic i polimerów wykorzystywanych do impregnacji drewna [206].

Chlorek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy może być wykorzystany w syntezie chemicznej oraz w elektrochemii [207-209].

Chlorek 1-metylo-3-oktyloimidazoliowy, może być natomiast wykorzystywany do różnego rodzaju syntez chemicznych [210,211].

1.2.2. Warunki prowadzenia eksperymentu wazonowego

Badania dotyczące określenia oddziaływania cieczy jonowych – chlorków alkiloimidazoliowych i alkiloamoniowych na zmiany fizjologiczno-biochemiczne, w tym stres oksydacyjny, w siewkach jęczmienia jarego zostały przeprowadzone w Katedrze Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii, Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie. Badania zostały oparte o wytyczne zawarte w przewodniku OECD/OCDE 208/2006 [212] oraz normie PN-EN ISO 11269-2 [213]. W eksperymencie wazonowym wykorzystano roślinę jednoliścienną – jęczmień jary (*Hordeum vulgare* L.). Doniczki o średnicy 90 mm napełniono glebą kontrolną (bez dodatku ILs) lub glebą z dodatkiem badanych ILs. Badane cieczy jonowe zostały zastosowane w stężeniach 1, 10, 100, 400, 700, 1000 mg·kg⁻¹ s.m. gleby. Glebą użytą w eksperymencie był piasek gliniasty. Najważniejsze parametry gleby zostały przedstawione w tabeli 3.

Tabela 3. Parametry fizykochemiczne gleby.

Parametr	Jednostka	Wynik	Wskazane wartości dla gleb uprawnych	
			Dolny zakres	Górny zakres
Frakcja <0,002 mm	%	5	20,0	40,0
Frakcja 0,05-2,0 mm	%	71,9		
Frakcja 0,002-0,05 mm	%	23,1		
pH (H ₂ O)		6,8	6,40	7,70
pH (KCl)		6,7	4,90	6,40
Zdolność wymiany kationów	mmol+/kg	189,1	75,0	200,0
Węgiel organiczny	g/kg	37,8	17,0	50,0
Azot ogółem	g/kg	3,2	1,0	2,0
Fosfor całkowity	g/kg	0,6	0,20	0,60
Fosfor (Mehlich3)	mg/kg	149,1	20,0	40,0
Potas całkowity	g/kg	8,6	11,0	23,0
Potas (wymienny)	mmol+/kg	2,7	1,50	3,00
Siarka całkowita	g/kg	0,3	0,30	0,50
Miedź całkowita	mg/kg	N/A		
Miedź (Mehlich3)	mg/kg	N/A		
Aluminium ogółem	g/kg	16,2	70,0	112,0
Aluminium (wymienne)	mmol+/kg	0,8	10,0	40,0
Żelazo ogółem	g/kg	5,6	31,0	81,0
Magnez ogółem	g/kg	0,4	1,30	6,30
Wapń ogółem	g/kg	10,6	2,40	14,0
Wapń (wymienny)	mmol+/kg	181,6	15,0	25,0
Wapń (Mehlich3)	mg/kg	3431,2	880,0	3800,0
Sód całkowity	mg/kg	5,1	3,10	13,0
Mangan ogółem	mg/kg	393	610,0	2300,0
Cynk (Mehlich3)	mg/kg	N/A		

Badane ciecze jonowe dodano do gleby w postaci roztworów wodnych o określonych stężeniach i mieszano mechanicznie w celu otrzymanie jednorodnego podłoża, do którego wysiano ziarno jęczmienia. Do wazonów wypełnionych 250 g gleby wysiano po 20 jednakowych nasion jęczmienia jarego. Przez cały okres prowadzenia badań utrzymywano stałą wilgotność podłoża (70% ppw), stałą temperaturę 20 ± 2 °C i stałe oświetlenie na poziomie $170 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ w systemie 16h dzień/8h noc.

Wszystkie badania prowadzone były w trzech powtórzeniach, a materiał roślinny do dalszych oznaczeń pobierany był w trzech terminach, tzn. w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby.

1.2.3. Oznaczanie podstawowych parametrów fitotoksyczności

1.2.3.1. Potencjał kiełkowania nasion oraz zdolność kiełkowania nasion

Potencjał kiełkowania nasion (PK) oraz zdolność kiełkowania nasion (ZK) obliczono z wykorzystaniem następujących wzorów [98]:

$$PK = \frac{\text{Liczba kiełkujących nasion w 3 dniu od ich wysiania}}{\text{liczba wysianych nasion}} \times 100\%$$

$$ZK = \frac{\text{Liczba kiełkujących nasion w 7 dniu od ich wysiania}}{\text{liczba wysianych nasion}} \times 100\%$$

Za kiełkujące uważane były te nasiona, dla których zarodek był większy niż 2 mm.

1.2.3.2. Inhibicja długości korzeni i części nadziemnych roślin

Długość części nadziemnych i korzeni była mierzona w sposób opisany przez Wang i wsp. [173]. Współczynnik inhibicji obliczano jako:

$$\frac{\text{długość pędów/korzeni w grupie kontrolnej} - \text{długość pędów/korzeni w grupie traktowanej ILS}}{\text{długość pędów/korzeni w grupie kontrolnej}} \times 100\%$$

Wyniki wyrażono jako % inhibicji długości części nadziemnych i długości korzeni w porównaniu do kontroli.

1.2.3.3. Inhibicja plonu świeżej masy siewek jęczmienia jarego

Inhibicję plonu świeżej masy roślin obliczono zgodnie ze wzorem:

$$\frac{\text{masa roślin grupie kontrolnej} - \text{masa roślin w grupie traktowanej ILS}}{\text{masa roślin w grupie kontrolnej}} \times 100\%$$

Wyniki wyrażono jako % inhibicji plonu świeżej masy w porównaniu do kontroli [173].

1.2.3.4. Wyznaczanie wartości EC₅₀

Skuteczne stężenia (EC₅₀) oszacowano za pomocą analizy regresji nieliniowej, korzystając z oprogramowania GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

1.2.4. Określenie poziomu suchej masy

Zawartość suchej masy oznaczono metodą suszarkowo – wagową, zgodnie z metodyką opisaną przez Kowalską [214]. Około 1 g świeżej masy roślin suszono w temp. 105 °C do uzyskania stałej masy. Zawartość suchej masy podano w $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ św.m.

1.2.5. Oznaczenie zawartości barwników asymilacyjnych

Zawartość barwników asymilacyjnych oznaczano metodą spektroskopową zgodnie z metodyką opisaną przez Oren i wsp. [215]. W tym celu naważkę – 200 mg świeżej masy liści homogenizowano z dodatkiem 80% roztworu acetonu schłodzonego do temp. 4 °C, następnie odwirowano, a przesącz uzupełniono do objętości 25 cm^3 . Zawartość chlorofilu *a* (chl*a*), chlorofilu *b* (chl*b*) i karotenoidów (car), oznaczono poprzez pomiar absorbancji przy długości fali 470 nm, 647 nm i 664 nm. Zawartość barwników asymilacyjnych, wyrażoną w $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ świeżej masy (św.m.), obliczono z następujących wzorów:

$$a = 11,78 \cdot A_{664} - 2,29 \cdot A_{647}$$

$$b = 20,05 \cdot A_{647} - 4,77 \cdot A_{664}$$

$$c = 1000 \cdot A_{470} - 3,27 \cdot a - 104 \cdot b$$

$$\text{chl } a = \frac{25 \cdot a}{m}$$

$$\text{chl } b = \frac{25 \cdot b}{m}$$

$$\text{car} = \frac{25 \cdot c}{229 \cdot m}$$

gdzie:

m – ilość mg świeżej masy materiału roślinnego

Zawartość barwników asymilacyjnych przeliczono następnie na suchą masę ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m.)

1.2.6. Oznaczenie zawartości dialdehydu malonowego

0,5 g świeżej masy liści homogenizowano z dodatkiem schłodzonego (4 °C) 0,1% roztworu kwasu trichlorooctowego. Uzyskany po odwirowaniu supernatant posłużył do oznaczenia zawartości MDA i H_2O_2 . Zawartość dialdehydu malonowego określono zgodnie z metodą opisaną przez Hodges i wsp. [216]. Jako substrat wykorzystano kwas tiobarbiturowy. Zawartość MDA oznaczono poprzez pomiar absorbancji przy długości fali 532 nm i 600 nm, a następnie obliczono wykorzystując współczynnik ekstynkcji równy $155 \text{ nm}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ i wyrażono w $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ św.m.

1.2.7. Oznaczanie zawartości H₂O₂

Do oznaczenia zawartości nadtlenu wodoru wykorzystano supernatant przygotowany według sposobu opisanego w metodyce dotyczącej oznaczania zawartości MDA. W celu określenia zawartości H₂O₂ przygotowano mieszaninę reakcyjną zawierającą supernatant, bufor fosforanowy o pH – 7,0 i jodek potasu zgodnie z metodyką opisaną przez Singh i wsp. [217]. Następnie zmierzono jej absorbancję przy długości fali 390 nm. Zawartość H₂O₂ obliczono wykorzystując współczynnik ekstynkcji równy 155 nm⁻¹·cm⁻¹ i wyrażono w μmol·g⁻¹ św.m.

1.2.8. Oznaczanie zawartości wolnej proliny

0,5 g świeżej próbki roślin homogenizowano z 5 cm³ 3% kwasu sulfosalicylowego, a następnie odwirowano. Do 2 cm³ supernatantu dodano mieszaninę 2 cm³ lodowatego kwasu octowego i 2 cm³ 2,5% (wag./obj.) kwaśnej ninhydryny. Próbkę ogrzewano przez 1 h w 100 °C, a następnie reakcję przzerwano na łaźni lodowej. Do roztworu dodano 5 cm³ toluenu i ekstrahowano. Absorbancję mierzono przy długości fali 520 nm i obliczono zawartość proliny (mg·g⁻¹ św.m.). Oznaczenie wykonano zgodnie z metodyką opisaną przez Bates'a i wsp. [218].

1.2.9. Oznaczenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych

0,5 g świeżej masy liści zhomogenizowano z dodatkiem schłodzonej (4 °C) mieszaniny ekstrakcyjnej zawierającej bufor fosforanowy o pH = 7,4 + 1 mM roztwór EDTA + 0,1% roztwór poliwinylpirolidonu (PVP). Otrzymany po odwirowaniu supernatant posłużył do oznaczenia aktywności badanych enzymów i zawartości białka.

Zawartość białka ogółem, niezbędnego do przeliczenia aktywności enzymatycznej SOD, CAT i POD określono metodą Bradforda [219] z wykorzystaniem barwnika Coomassine Blue.

1.2.9.1. Katalaza (CAT)

Aktywność katalazy (CAT) [EC 1.11.1.6] została oznaczona poprzez rozkład nadtlenu wodoru w czasie 15 minut. Oznaczenie wykonano zgodnie z metodyką opisaną przez Kar i Mishra [220]. Pozostały po reakcji H₂O₂ odmiareczkowano 0,01 N roztworem manganianu (VII) potasu. Aktywność katalazy wyrażono U·mg⁻¹ białka ·min⁻¹.

1.2.9.2. Peroksydaza (POD)

Aktywność peroksydazy (POD) [EC 1.11.1.7] oznaczono zgodnie z metodyką opisaną przez Abassiego i wsp. [222], poprzez spektrofotometryczne określenie szybkości utleniania gwajakolu w obecności H₂O₂ w czasie 1 minuty przy długości fali 470 nm. Aktywność peroksydazy wyrażono jako U·mg⁻¹ białka ·min⁻¹.

1.2.9.3. Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD)

Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) [EC 1.15.1.1] oznaczono spektrofotometrycznie, zgodnie z metodą opisaną przez Giannopolitis i Ries [222], poprzez pomiar stopnia redukcji błękitu nitrotetrazoliowego (NBT). Absorbancję mieszaniny reakcyjnej mierzono przy długości fali 560 nm. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej wyrażono w jednostkach aktywności – $U \cdot mg^{-1}$ białka. U – jedna jednostka aktywności SOD, odpowiada ilości enzymu powodującej 50% zahamowanie szybkości reakcji redukcji NBT.

1.2.10. Analiza statystyczna

Wszystkie wyniki eksperymentalne zostały poddane analizie statystycznej za pomocą programu STATISTICA 12.5. Dane z trzech pomiarów ($n = 3$) analizowano przy użyciu dwuczynnikowej analizy wariancji ANOVA, a następnie testu post-hoc Tukeya, co pozwoliło na wyznaczenie grup jednorodnych. Rozważono różnice znaczące na poziomie $p < 0,05$. Wyniki wyrażono jako średnią arytmetyczną \pm odchylenie standardowe. Ponadto, na wykresach odchylenia standardowe zostały naniesione w postaci pionowych linii. Przy pomocy analizy wariancji określono siłę efektu η^2 , który wskazuje na procentowy udział zmiennych jakościowych (termin, stężenie, rodzaj ILS) w uzyskaniu wielkości plonu świeżej masy i suchej masy, zawartości barwników asymilacyjnych, H_2O_2 , MDA, wolnej proliny oraz aktywności SOD, CAT i POD.

2. Wyniki badań i dyskusja

2.1. Fitotoksyczność cieczy jonowych

2.1.1. Potencjał kiełkowania nasion i zdolność kiełkowania nasion

Kiełkowanie jest to faza rozwoju rośliny, na którą składają się procesy fizjologiczne, zachodzące wewnątrz nasiona, podczas których następuje wznowienie aktywności metabolicznej nasienia prowadzące do zainicjowania wzrostu siewki. Zachodzące w nasionie zmiany prowadzą do jego przejścia od stanu spoczynku do aktywacji zarodka. Kiełkowanie następuje w momencie, gdy zapewni się nasionom odpowiednie warunki do wzrostu tj. odpowiednia temperatura, wilgotność czy dostęp powietrza. Istnieją również nasiona wrażliwe na światło. Są to tzw. nasiona fotoblastyczne i zaliczamy do nich np. nasiona sałaty. Jedynie około 4% roślin wytwarza nasiona niewrażliwe na światło. Do tego typu roślin zaliczamy wiele roślin uprawnych m.in. zboża i rośliny motylkowe. Kiełkowanie wielu roślin zależne jest również od dostępu tlenu. Zmniejszenie zawartości tlenu w atmosferze powoduje inhibicję kiełkowania nasion sałaty i marchewki. Są również nasiona jak np. pałki szerokolistnej, które lepiej kiełkują przy niższej zawartości tlenu. Istnieją też nasiona, dla których zawartość tlenu w atmosferze nie ma większego znaczenia i kiełkują równie dobrze przy zawartości tlenu 2%, 21% jak i 90%. Zwiększenie natomiast zawartości CO₂ w atmosferze powyżej 15%, w przypadku większości roślin prowadzi do całkowitego zahamowania kiełkowania nasion. Również obecność azotanów w glebie powoduje stymulację kiełkowania nasion. Natomiast mniejszy wpływ na proces kiełkowania nasion ma zawartość związków mineralnych w glebie, gdyż na tym etapie rozwijająca się roślina korzysta z substancji zapasowych zgromadzonych w ziarnie.

Istotny wpływ na proces kiełkowania ma również obecność substancji wzrostowych w glebie tj. gibereliny i cytokininy, które są stymulatorami kiełkowania oraz kwasu abscynowego powodującego hamowanie kiełkowania nasion. Oprócz warunków środowiskowych na proces kiełkowania nasion mają wpływ czynniki endogenne czyli wewnętrzne. Do czynników wewnętrznych zaliczamy hormony (tj. etylen, gibereliny, kwas abscynowy), regulatory wzrostu czy reaktywne formy tlenu.

W procesie kiełkowania nasion wyróżnić możemy trzy fazy: imibicji (pęcznienia), kataboliczną oraz anaboliczną. W trakcie fazy imibicji następuje wzrost oddychania oraz intensywne pochłanianie wody przez nasiona. W fazie katabolicznej następuje uruchomienie substancji zapasowych w wyniku hydrolizy związków wielkocząsteczkowych (polisacharydy, białka, tłuszcze) do małowcząsteczkowych. Cukry proste, które powstają w wyniku rozkładu polisacharydów służą jako substraty w reakcji glikolizy i innych szlaków katabolicznych służących do wytwarzania energii i substratów do syntez. Produktami hydrolizy białek zapasowych zgromadzonych w ziarnie są aminokwasy, które wykorzystywane są do syntezy nowych białek w anabolicznej fazie kiełkowania. Kwasy tłuszczowe ulegają β -oksydacji, a uzyskane w ten sposób produkty w procesie glukogenezy przetwarzane są w cukry, które tworzą dodatkową pulę substancji zapasowych wykorzystywanych w procesie kiełkowania nasion. Zmiany zachodzące w trakcie kiełkowania wymagają szeregu aktywności

enzymatycznych, które umożliwiają przebieg wielu reakcji. Faza anaboliczna polega na syntezie nowych składników komórkowych. Po pęknięciu łupiny nasiennej u ziarniaków zbóż pojawia się najpierw korzonek. Równocześnie ze wzrostem kolejnych korzeni rozwija się koleoptyl, czyli pochwka liściowa, która osłania pierwszy liść. Po wydostaniu się z koleoptyla w liściu rozpoczyna się fotosynteza [122]. Nasiona, dla których zarodek jest większy niż 2 mm są uważane za kiełkujące [98].

Na proces kiełkowania nasion duży wpływ mogą mieć zanieczyszczenia, które znajdują się w środowisku ich występowania. Obecność czynników stresowych we wczesnych etapach rozwoju roślin stanowi obecnie jeden z istotnych problemów współczesnego rolnictwa. Na podstawie wyników uzyskanych w prezentowanych badaniach można stwierdzić, że wszystkie zastosowane cieczki jonowe nie miały większego wpływu na potencjał kiełkowania nasion. Jedynie [TBA][Cl], zastosowany w stężeniach największych, 700 i 1000 mg·kg⁻¹ s.m. gleby, spowodował niewielkie obniżenie potencjału kiełkowania ziarna jęczmienia jarego. Nie zaobserwowano natomiast wpływu badanych ILs na zdolność kiełkowania nasion (Tabela 4).

Tabela 4. Wpływ ILs na potencjał kiełkowania (PK) i zdolność kiełkowania (ZK) nasion jęczmienia jarego (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Stężenie ILs [mg·kg ⁻¹ s.m. gleby]	ILs	PK [%]	ZK [%]	ILs	PK [%]	ZK [%]
0	[TEA][Cl]	92,50 \pm 5,24 ^a	98,33 \pm 2,58 ^a	[EMIM][Cl]	94,17 \pm 8,01 ^a	97,50 \pm 6,12 ^a
1		92,50 \pm 5,24 ^a	99,17 \pm 2,04 ^a		96,67 \pm 6,06 ^a	98,33 \pm 4,08 ^a
10		90,00 \pm 5,48 ^a	96,67 \pm 4,08 ^a		97,50 \pm 4,18 ^a	98,33 \pm 2,58 ^a
100		95,00 \pm 4,47 ^a	98,33 \pm 2,58 ^a		99,17 \pm 2,04 ^a	100,00 ^a
400		95,00 \pm 4,47 ^a	98,33 \pm 2,58 ^a		98,33 \pm 2,58 ^a	100,00 ^a
700		88,33 \pm 9,31 ^a	99,17 \pm 2,04 ^a		98,33 \pm 2,58 ^a	98,33 \pm 2,58 ^a
1000		84,17 \pm 9,17 ^a	98,33 \pm 2,58 ^a		93,33 \pm 5,16 ^a	96,67 \pm 2,58 ^a
0	[TBA][Cl]	91,67 \pm 2,89 ^{bc}	95,00 ^{ab}	[BMIM][Cl]	97,50 \pm 4,18 ^a	98,33 \pm 2,58 ^{ab}
1		98,33 \pm 2,89 ^a	100,00 ^a		96,67 \pm 4,08 ^a	96,67 \pm 2,58 ^{ab}
10		95,00 \pm 5,00 ^{ab}	95,00 \pm 5,00 ^a		100,00 ^a	100,00 ^a
100		98,33 \pm 2,89 ^a	100 ^a		96,67 \pm 2,58 ^a	100,00 ^a
400		91,67 \pm 2,89 ^{bc}	95,00 ^{ab}		94,17 \pm 3,76 ^a	95,50 \pm 2,74 ^{ab}
700		86,67 \pm 5,77 ^{cd}	95,00 \pm 5,00 ^b		93,33 \pm 6,83 ^a	94,17 \pm 4,92 ^b
1000		85,00 \pm 5,00 ^d	95,00 \pm 5,00 ^b		93,33 \pm 4,08 ^a	98,33 \pm 2,58 ^{ab}
0	[TOA][Cl]	97,50 \pm 2,74 ^a	99,17 \pm 2,04 ^a	[OMIM][Cl]	95,00 \pm 4,42 ^{ab}	98,33 \pm 2,58 ^a
1		95,83 \pm 3,76 ^a	96,67 \pm 4,08 ^a		95,83 \pm 5,85 ^{ab}	95,83 \pm 3,76 ^a
10		98,33 \pm 2,58 ^a	98,33 \pm 2,58 ^a		95,83 \pm 3,76 ^{ab}	95,83 \pm 3,86 ^a
100		97,50 \pm 2,74 ^a	100,00 ^a		99,17 \pm 2,04 ^a	99,17 \pm 2,04 ^a
400		96,67 \pm 4,08 ^a	96,67 \pm 4,08 ^a		95,83 \pm 3,76 ^{ab}	98,33 \pm 4,08 ^a
700		98,33 \pm 2,58 ^a	99,17 \pm 2,04 ^a		96,67 \pm 4,08 ^a	99,17 \pm 2,04 ^a
1000		95,00 \pm 6,32 ^a	95,00 \pm 6,32 ^a		87,50 \pm 6,89 ^b	98,33 \pm 4,08 ^a

Podobny brak wpływu cieczy jonowych: heksafluorofosforanu 1-butylo-3-metyloimidazoliowego i heksafluorofosforanu 1-butylo-2,3-dimetyloimidazoliowego na proces kiełkowania nasion rzodkiewki zwyczajnej zaobserwowali Biczak i wsp. [108]. Badane heksafluorofosforany miały natomiast istotny wpływ na potencjał kiełkowania i zdolność kiełkowania nasion jęczmienia jarego. O inhibitującym wpływie cieczy jonowych na kiełkowanie nasion jęczmienia donoszą również Liu i wsp. [98] po zastosowaniu heksafluorofosforanu 1-oktylo-3-metyloimidazoliowego dla pszenicy oraz Cvjetko Bubalo i wsp. [97] po zastosowaniu tetrafluoroboranu 1-butylo-3-metyloimidazoliowego, octanu 1-n-butylo-3-metyloimidazoliowego oraz bromków 1-n-butylo-3-metyloimidazoliowego, 1-n-heptylo-3-metyloimidazoliowego i 1-n-decylo-3-metyloimidazoliowego. Tot i wsp. [223] badając wpływ różnych imidazoliowych cieczy jonowych na siewki jęczmienia i pszenicy zaobserwowali oddziaływanie badanych związków na potencjał kiełkowania nasion, a inhibitujący wpływ badanych związków na kiełkowanie nasion pszenicy stworzył następujący szereg: [Im][Cl] < [Bmim][Cl] < [C1OC2mim][Cl] < [C2OC2mim][Cl] < [C3OHmim][Cl] < [C3OHeim][Cl] < [C2OHmim][Cl]. Autorzy Ci podkreślają, że protonowe cieczy jonowe, takie jak chlorek imidazoliowy i chlorek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy wykazują większą fitotoksyczność w stosunku do siewek pszenicy i jęczmienia, natomiast przyłączenie łańcucha alkilowego do pierścienia imidazoliowego oraz wprowadzenie tlenu do łańcucha alkilowego zmniejsza toksyczne oddziaływanie ILs. Na podstawie badań własnych oraz cytowanych autorów można stwierdzić, że wpływ ILs na potencjał i zdolność kiełkowania nasion jest uzależniony od zastosowanego związku oraz jego stężenia, jak również od gatunku rośliny na którą badany związek działa.

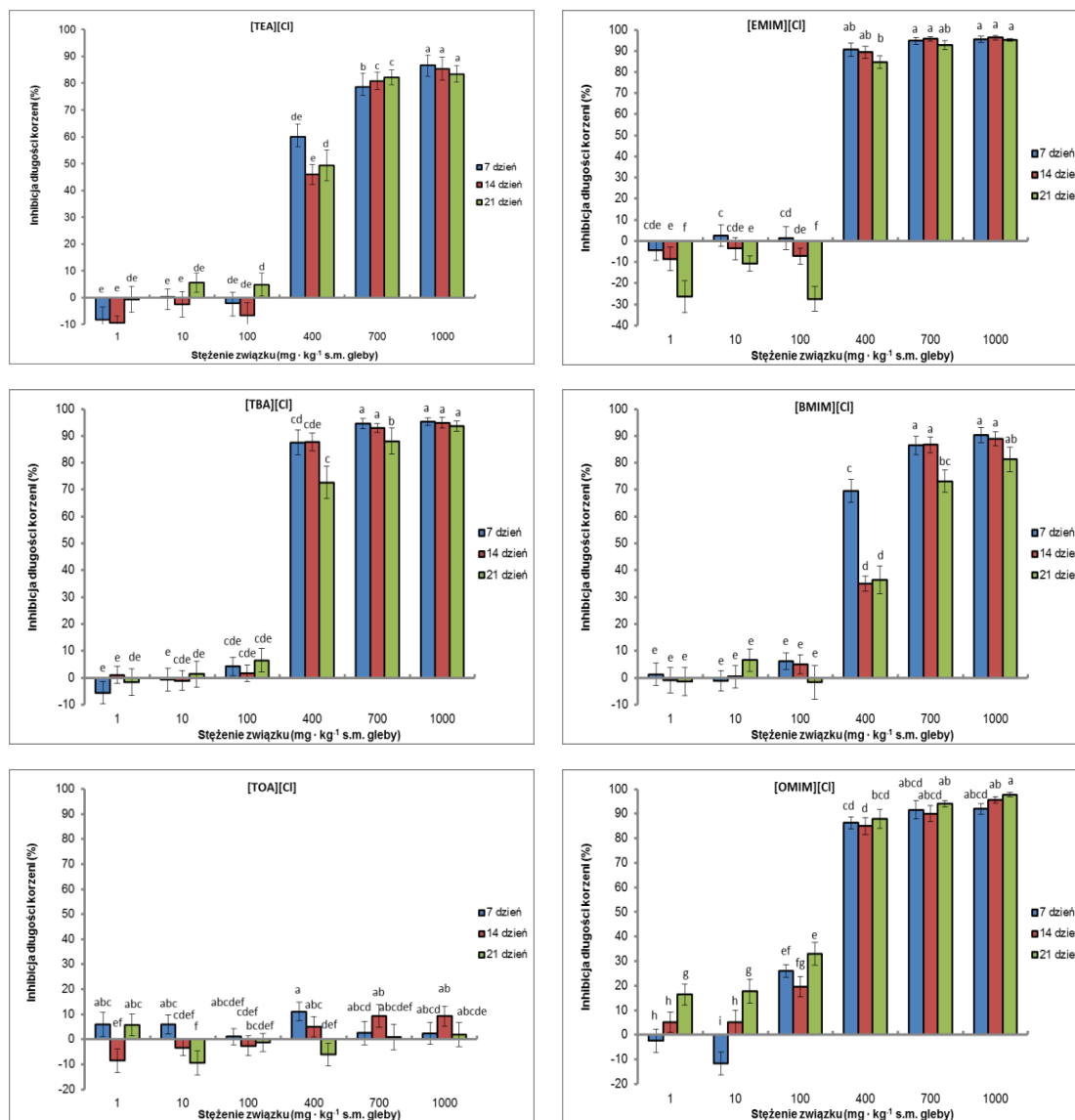
2.1.2. Inhibicja długości korzeni i części nadziemnych roślin

Jednym z ważniejszych organów każdej rośliny są korzenie. W przypadku zbóż kiełkujący ziarniak wytwarza korzenie zarodkowe, których liczba uzależniona jest od gatunku zboża. Jęczmień wytwarza 5-8 korzeni zarodkowych. Korzenie przybyszowe wchodzące w skład systemu korzeniowego zbóż wyrastają z dolnych węzłów głównego pędu. Korzenie odpowiadają przede wszystkim za utrzymanie rośliny w podłożu oraz dostarczenie roślinie wody i substancji odżywczych. Istnieją również korzenie wyspecjalizowane do pełnienia dodatkowo różnych specjalistycznych funkcji tj. korzenie oddechowe, czepne, spichrzowe, powietrzne czy asymilacyjne. W korzeniu zachodzi również wiele reakcji istotnych dla właściwego metabolizmu rośliny. Rozróżniamy dwa rodzaje systemów korzeniowych: palowy – charakterystyczny dla roślin dwuliściennych oraz wiązkowy – typowy dla roślin jednoliściennych. Ze względu na sposób pobierania wody zboża posiadają systemem korzeniowy intensywny. Korzenie tego typu charakteryzują się licznymi i silnie rozgałęzionymi korzeniami przybyszowymi. Są one stosunkowo krótkie, jednak dzięki ich dużej liczbie całkowita ich długość może sięgać wielu kilometrów. Jęczmień, podobnie jak pszenica charakteryzuje się stosunkowo słabo rozwiniętym systemem korzeniowym [224,225].

W przeciwieństwie do zwierząt rośliny nie są w stanie przemieszczać się unikając różnego typu zagrożeń, dlatego wpływ środowiska w którym egzystują na ich wzrost

i rozwój jest bardzo duży. Również rozwój systemu korzeniowego jest silnie uzależniony od warunków środowiskowych. Duże znaczenie ma obecność innych roślin czy grzybów w bezpośrednim sąsiedztwie. Poza konkutowaniem o dostęp do wody, substancji odżywczych czy światła, organizmy te mogą wydzielać do gleby substancje chemiczne, które mogą mieć istotny (zarówno korzystny, jak i szkodliwy) wpływ na kiełkowanie oraz wzrost i rozwój roślin. Zjawisko takie nazywamy allelopatią [226]. Obecność substancji toksycznych w środowisku może prowadzić do ograniczenia wzrostu korzeni zarówno zarodkowych, jak i przybyszowych, a w skrajnych przypadkach do całkowitej inhibicji ich wzrostu.

W wyniku przeprowadzonego eksperymentu wazonowego zaobserwowano inhibicję wzrostu korzeni przy zastosowaniu badanych ILs w stężeniach 400, 700 i 1000 mg·kg⁻¹ s.m. gleby. W przypadku [TBA][Cl], [EMIM][Cl], [OMIM][Cl] wartości te wynosiły ok. 90%. Dla [TEA][Cl] oraz [BMIM][Cl] również obserwowano inhibicję wzrostu korzeni wynoszącą ok. 80-90% dla stężeń 700 i 1000 mg·kg⁻¹ s.m. gleby oraz około 46-60% dla [TEA][Cl] i 35-70% dla [BMIM][Cl] po zastosowaniu ILs w stężeniu 400 mg·kg⁻¹ s.m. gleby. Największy wpływ na wzrost i rozwój korzeni siewek jęczmienia jarego wykazał chlorek 1-metylo-3-oktyloimidazoliowy, po zastosowaniu którego obserwowano inhibicję wzrostu korzeni nawet przy niższych stężeniach związku (100 mg·kg⁻¹ s.m. gleby). Obecność w glebie chlorku tetraoktykoamoniowego nie powodowała natomiast inhibicji długości korzeni siewek jęczmienia nawet po zastosowaniu najwyższych stężeń tego związku (Rys. 8). Przy zastosowaniu wyższych stężeń ILs (poza [TOA][Cl]) oprócz inhibicji długości korzeni obserwowana była również redukcja ilości korzeni przybyszowych, a nawet całkowity ich brak. Nie stwierdzono natomiast większych różnic w wielkości inhibicji długości korzeni jęczmienia jarego w poszczególnych terminach badań.



Rys. 8. Inhibicja długości korzeni (średnia ± odch. stand., n = 3). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Wartości inhibicji długości korzeni znajdują potwierdzenie w wyglądzie tych organów (Rys. 9-14).



Rys. 9. Reakcja korzeni jęczmienia jarego na obecność w glebie chlorku tetraetyloamoniowego.



Rys. 10. Reakcja korzeni jęczmienia jarego na obecność w glebie chlorku tetrabutylamoniowego.



Rys. 11. Reakcja korzeni jęczmienia jarego na obecność w glebie chlorku tetraoktyloamoniowego.



Rys. 12. Reakcja korzeni jęczmienia jarego na obecność w glebie chlorku 1-etylo-3-metyloimidazoliowego.

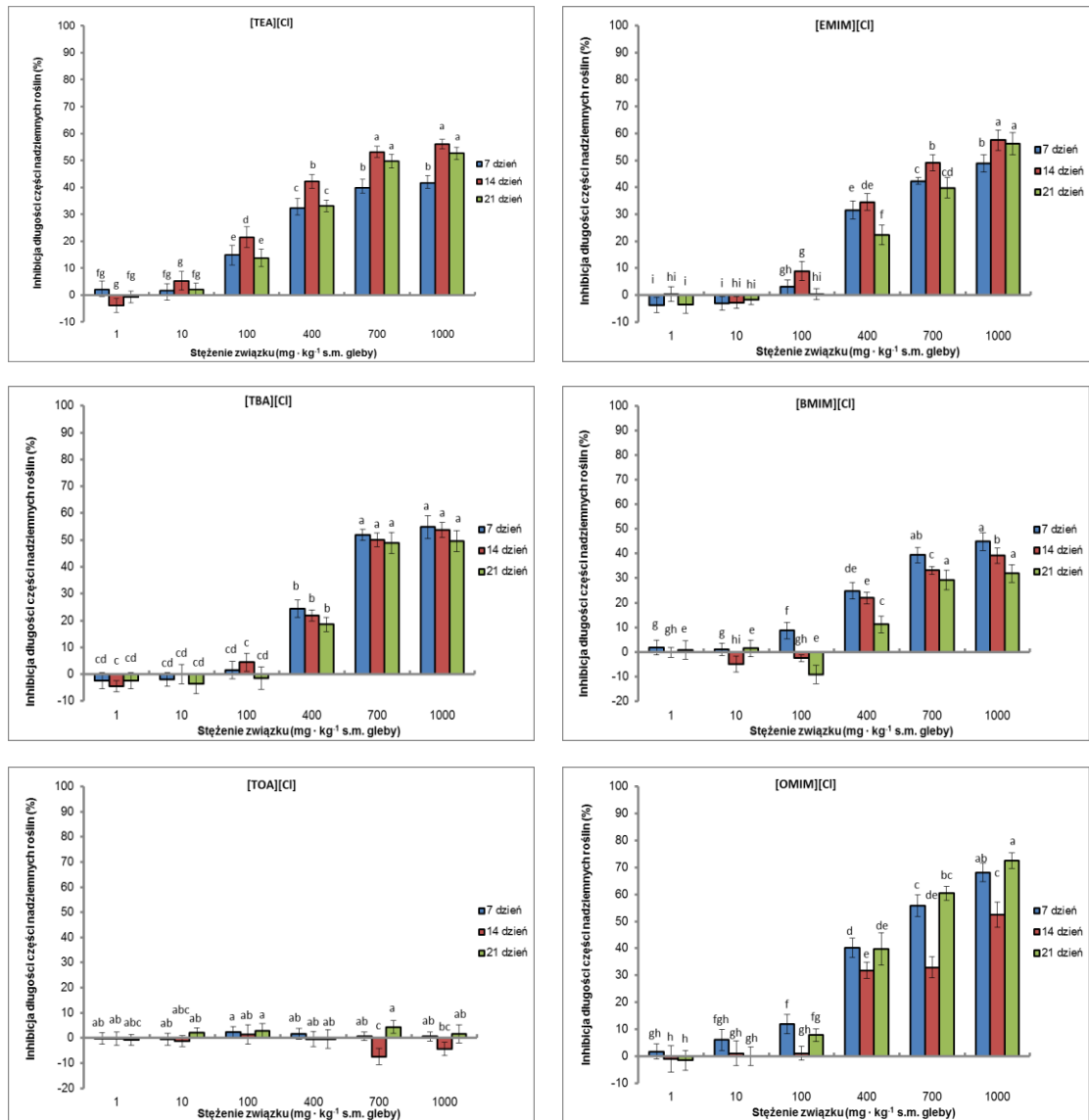


Rys. 13. Reakcja korzeni jęczmienia jarego na obecność w glebie chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego.



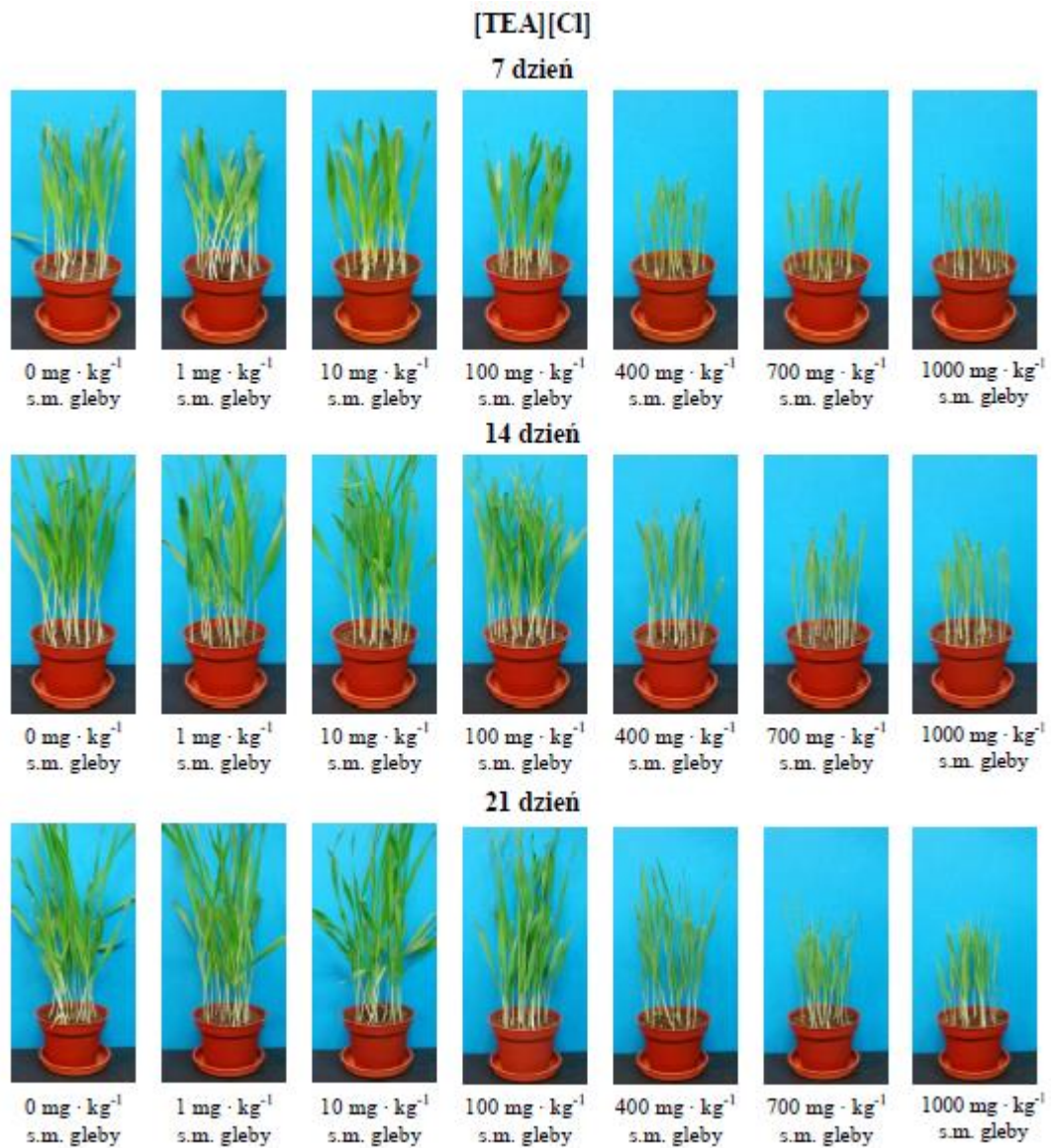
Rys. 14. Reakcja korzeni jęczmienia jarego na obecność w glebie chlorku 1-metylo-3-oktyloimidazoliowego.

Ze względu na istotność funkcji jakie pełnią korzenie, ich wzrost i rozwój pozostaje w ścisłym związku ze wzrostem części nadziemnych roślin. W toku prowadzonych badań obserwowano inhibicję wzrostu części nadziemnych roślin, podobnie jak w przypadku korzeni, po zastosowaniu cieczy jonowych w stężeniu 400, 700 i 1000 mg·kg⁻¹ s.m. gleby. Wartości inhibicji wzrostu części nadziemnych roślin były jednak niższe, niż w przypadku inhibicji korzeni i wynosiły średnio ok. 50-60%. W przypadku tego parametru, największą toksycznością również charakteryzował się [OMIM][Cl] (52-73% inhibicji), natomiast brak oddziaływania na wzrost części nadziemnych siewek jęczmienia jarego obserwowano po zastosowaniu [TOA][Cl] (Rys. 15). Podobnie jak to miało miejsce w przypadku inhibicji długości korzeni, nie stwierdzono również zasadniczych różnic w wielkości inhibicji długości części nadziemnych jęczmienia jarego w poszczególnych terminach badań.

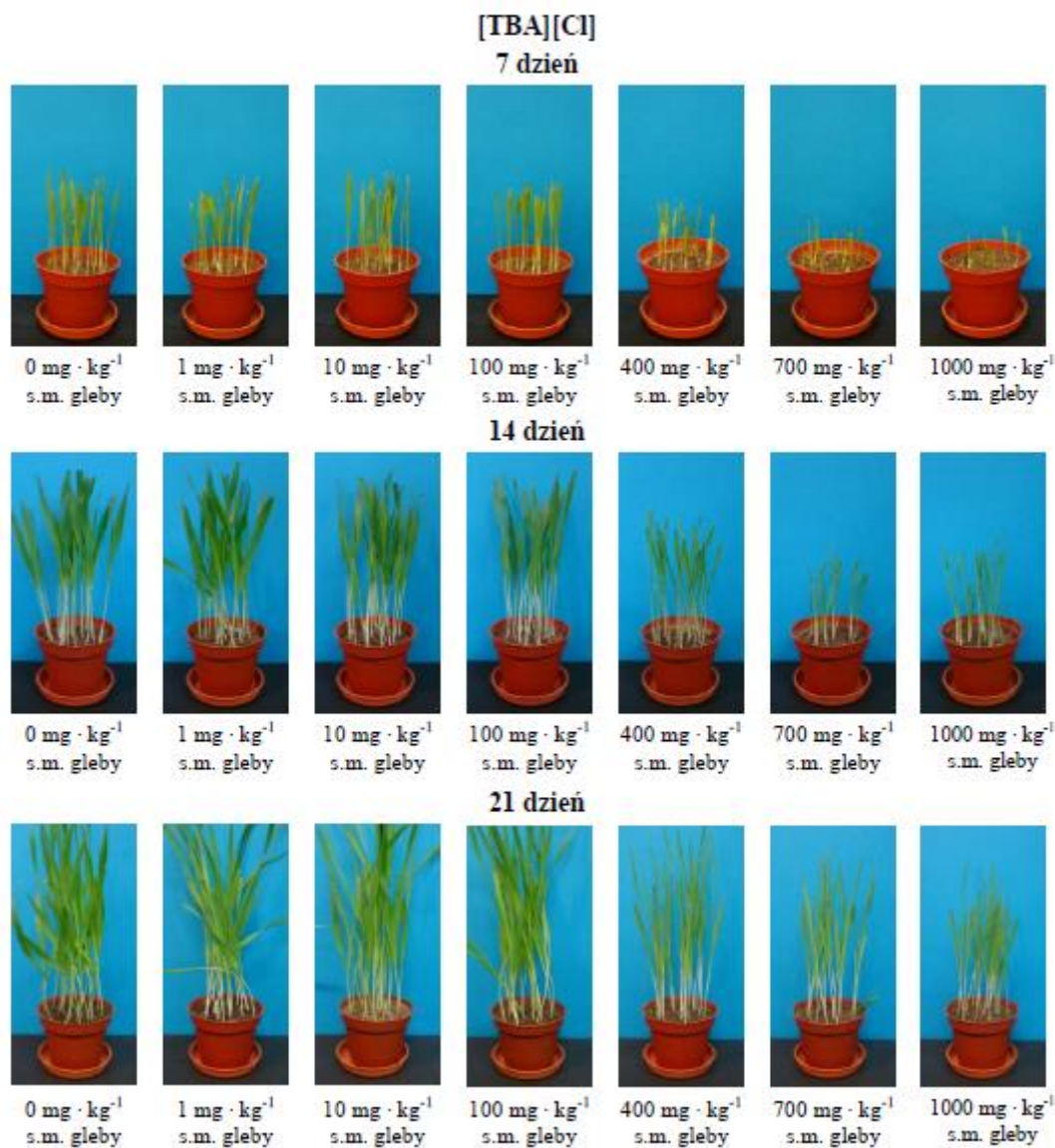


Rys. 15. Inhibicja długości części nadziemnych roślin (średnia ± odch. stand., n = 3). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

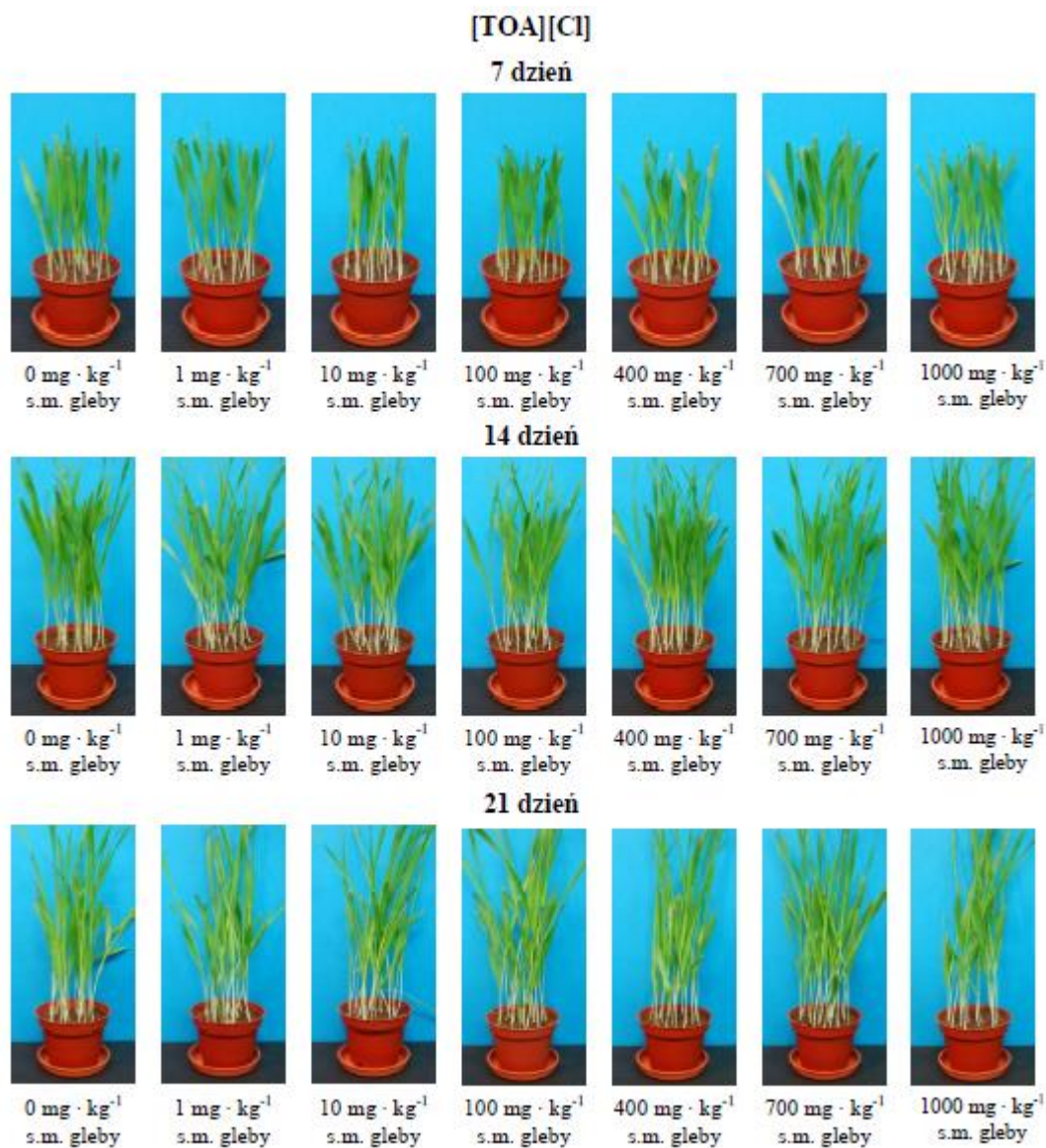
Wartości inhibicji długości części nadziemnych roślin znajdują potwierdzenie w wyglądzie roślin. Wprowadzenie do gleby ILs nie powodowało natomiast żadnych zmian chlorotycznych czy nekrotycznych u siewek jęczmienia jarego (Rys.16-21).



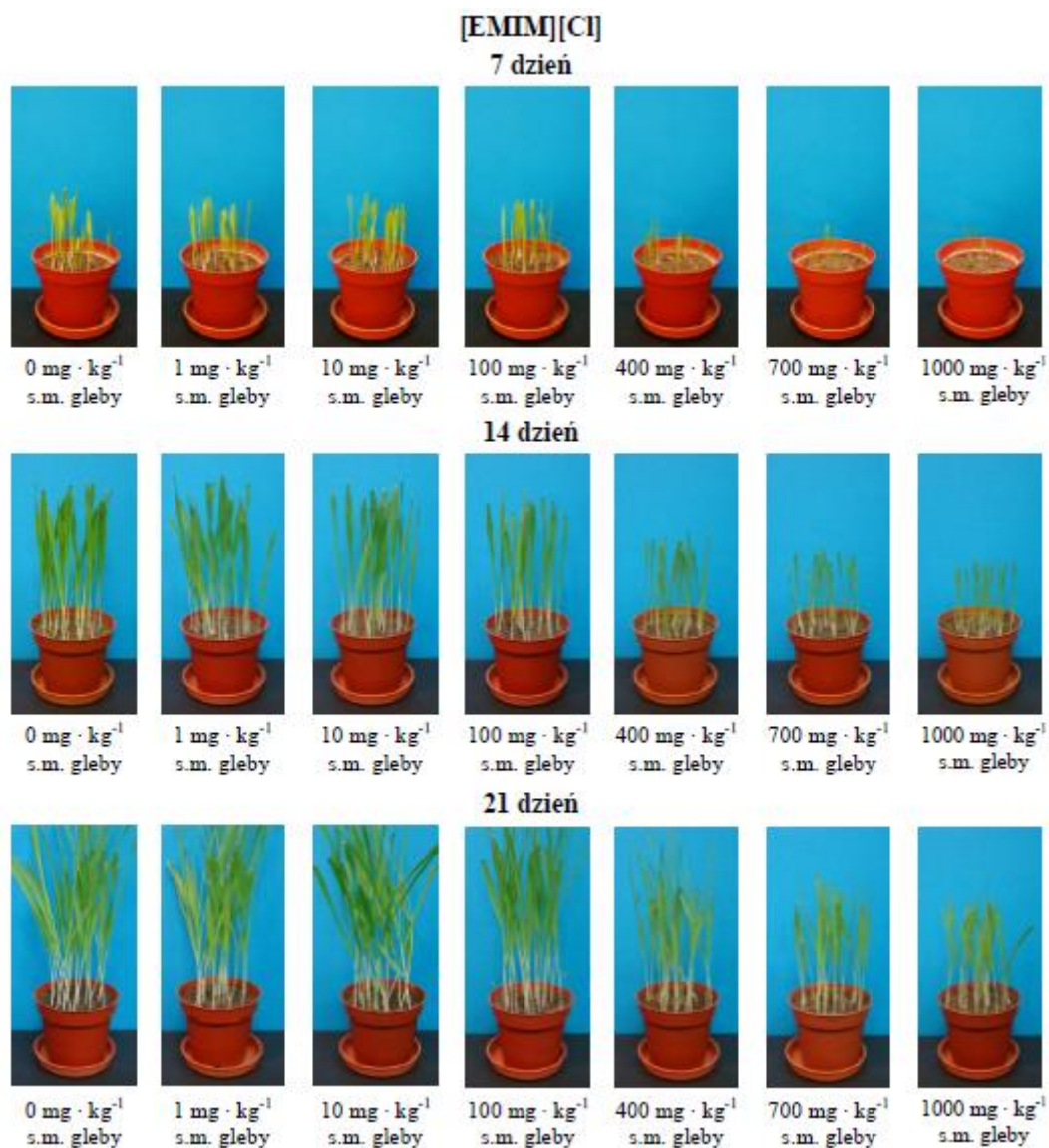
Rys. 16. Zdjęcia cyfrowe siewek jęczmienia jarego rosnących na glebie z dodatkiem [TEA][Cl] w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby.



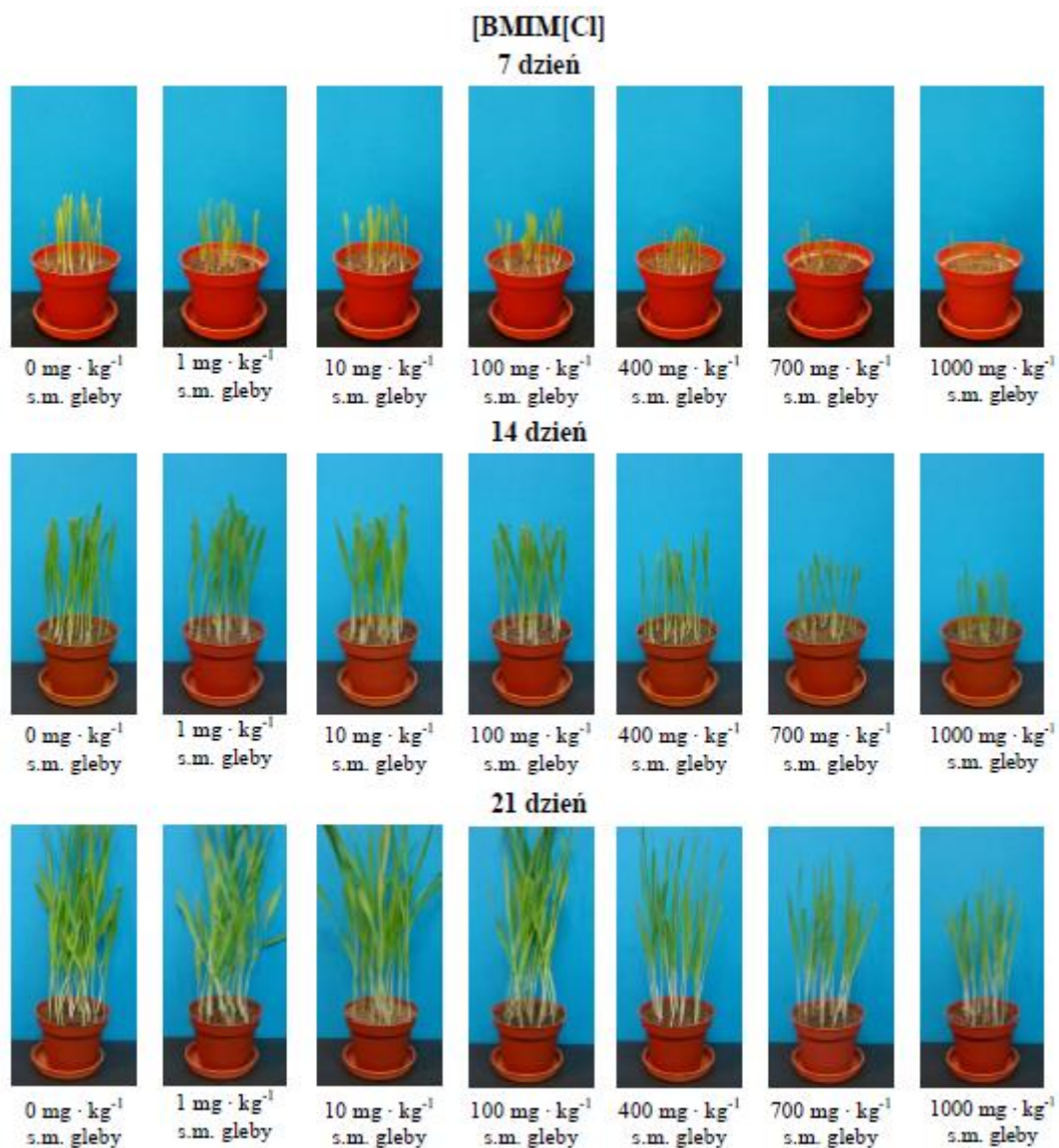
Rys. 17. Zdjęcia cyfrowe siewek jęczmienia jarego rosnących na glebie z dodatkiem [TBA][Cl] w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby.



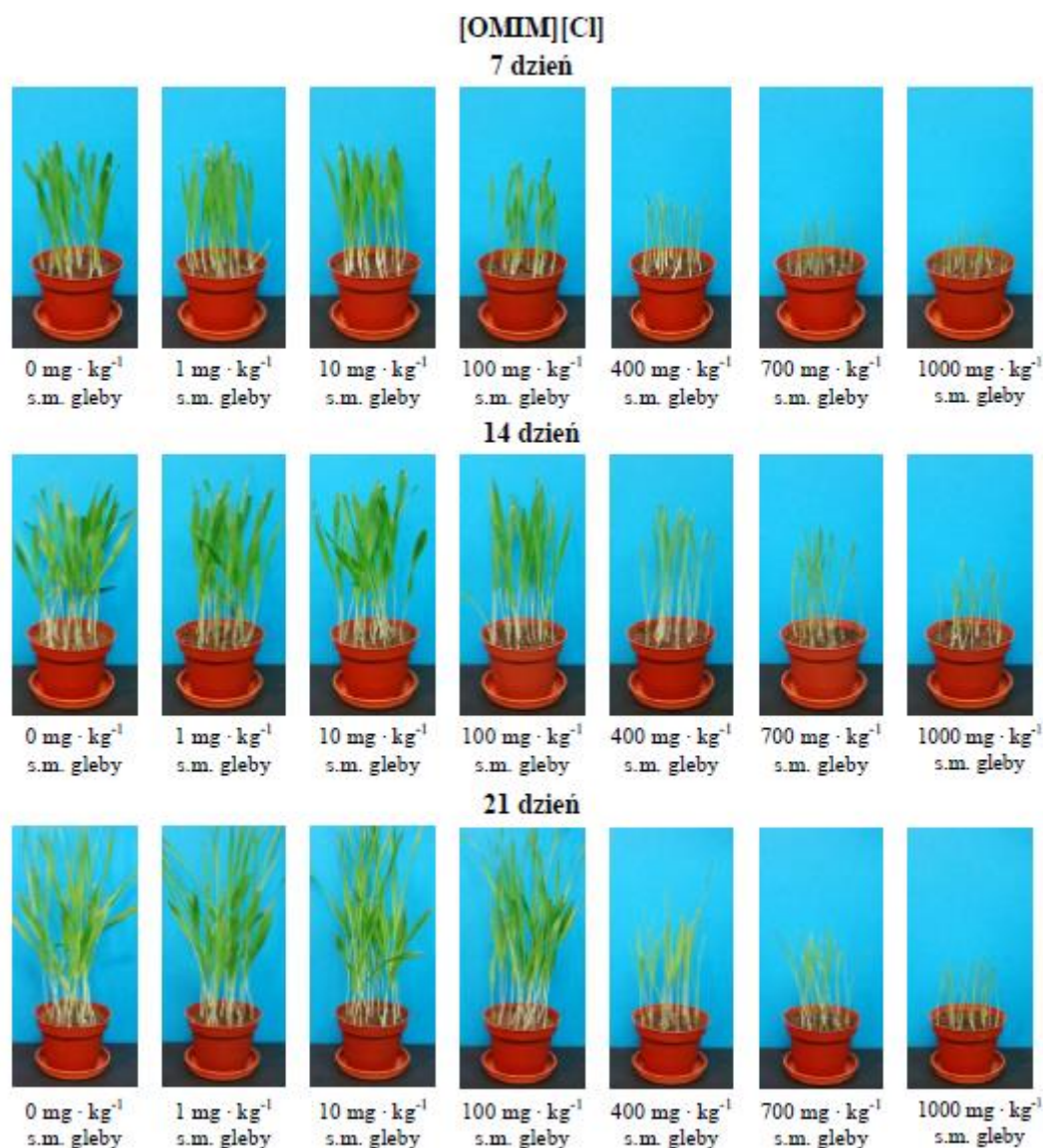
Rys. 18. Zdjęcia cyfrowe siewek jęczmienia jarego rosnących na glebie z dodatkiem [TOA][Cl] w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby.



Rys. 19. Zdjęcia cyfrowe siewek jęczmienia jarego rosnących na glebie z dodatkiem [EMIM][Cl] w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby.



Rys. 20. Zdjęcia cyfrowe siewek jęczmienia jarego rosnących na glebie z dodatkiem [BMIM][Cl] w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby.



Rys. 21. Zdjęcia cyfrowe siewek jęczmienia jarego rosnących na glebie z dodatkiem [OMIM][Cl] w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby.

Uzyskane w omawianym eksperymencie wyniki badań znajdują potwierdzenie w dostępnej literaturze [95,97,100,101,223,227]. Według doniesień literaturowych inhibicja długości korzeni oraz części nadziemnych roślin należą do jednych z najbardziej oczywistych symptomów fitotoksyczności oraz objawów stresu zarówno abiotycznego, jak i biotycznego u roślin. Według cytowanych autorów niskie stężenia ILs mogą działać jak hormony wzrostu powodując szybszy wzrost roślin. Wysokie stężenia ILs prowadzą natomiast do inhibicji długości części nadziemnych roślin i ich korzeni, a zmiany te są z reguły wręcz liniowo skorelowane ze wzrostem stężenia badanych związków w glebie. Ponadto Biczak i wsp. [21], Matzke i wsp. [91] oraz Tot i wsp. [227] zwracają uwagę na większą odporność roślin dwuliściennych na ILs, w stosunku do roślin jednoliściennych. Pawłowska i Biczak [228] porównując wpływ chlorku tetraetyloamoniowego i bromku tetraetyloamoniowego dla jęczmienia jarego i rzodkiewki zwyczajnej zaobserwowali, że rzodkiewka zwyczajna jest bardziej odporna

na badane związki niż jęczmień jary. W przypadku rzodkiewki zwyczajnej zaobserwowano również zmiany chlorotyczne po zastosowaniu badanych związków. Autorzy Ci uzasadniają różnicę w oddziaływaniu ILs na rośliny jednoliścienne i dwuliścienne m.in. różnicami w budowie ich korzeni.

Telesiński i wsp. [88,89,229] wskazują natomiast na istotność zmian enzymatycznych zachodzących w glebie pod wpływem m.in. cieczy jonowych. Aktywność fosfataz czy oksydazy fenolowej ma istotny wpływ na jakość gleby. Oksydazy polifenolowe, katalizują niespecyficzne reakcje polimeryzacji, depolimeryzacji i transformowania związków fenolowych oraz mogą rozkładać aromatyczne zanieczyszczenia gleby. Fosfatazy natomiast są uważane za doskonałe wskaźniki potencjału mineralizacji fosforu organicznego, a ich aktywność odzwierciedla aktywność enzymów związanych z próchnicą i koloidami glebowymi oraz ogólnie rozumianą aktywność biologiczną gleby. W związku z powyższym, ponieważ gleba stanowi źródło życia roślin wyższych to wszelkie zmiany w niej zachodzące mają bezpośredni wpływ na ich wzrost i rozwój.

2.1.3. Inhibicja plonu świeżej masy siewek jęczmienia jarego

Długość części nadziemnych roślin znajduje bezpośrednie odzwierciedlenie w plonie świeżej masy roślin. W wyniku przeprowadzonych badań obserwowano inhibicję plonu świeżej masy roślin po zastosowaniu badanych ILs, zastosowanych w stężeniach 100-1000 mg·kg⁻¹ s.m. gleby. Można stwierdzić, że wraz ze wzrostem stężenia badanych ILs w glebie obserwujemy wręcz liniowy wzrost inhibicji plonu świeżej masy siewek jęczmienia jarego. Niższe stężenia badanych ILs: 1 i 10 mg·kg⁻¹ s.m. gleby nie powodowały inhibicji plonu świeżej masy roślin, a wręcz przeciwnie, w wielu przypadkach działały pobudzająco na wzrost roślin. Stwierdzony natomiast brak oddziaływania [TOA][Cl] na wzrost części nadziemnych jęczmienia jarego przełożył się również na brak inhibicji plonu świeżej masy siewek tej rośliny. Analizując wielkości inhibicji plonu świeżej masy jęczmienia jarego w poszczególnych terminach badań, nie stwierdzono żadnych istotnych różnic, podobnie jak to miało miejsce w przypadku inhibicji długości korzeni i części nadziemnych (Tabela 5).

Tabela 5. Inhibicja plonu świeżej masy roślin po ekspozycji na ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

ILs	Stężenie ILs [mg·kg ⁻¹ s.m. gleby]	7. dzień	14. dzień	21. dzień
[TEA][Cl]	1	0,373 \pm 1,481 ^f	-1,257 \pm 1,874 ^f	-4,005 \pm 3,321 ^f
	10	3,180 \pm 2,689 ^{ef}	5,740 \pm 2,198 ^{def}	-3,743 \pm 1,533 ^f
	100	11,848 \pm 5,879 ^{cde}	15,704 \pm 2,524 ^c	14,912 \pm 1,085 ^{cd}
	400	57,425 \pm 3,496 ^b	55,426 \pm 0,211 ^b	55,120 \pm 2,058 ^b
	700	63,639 \pm 1,548 ^{ab}	68,043 \pm 2,341 ^a	68,843 \pm 3,151 ^a
	1000	67,484 \pm 1,032 ^a	69,390 \pm 0,084 ^a	67,587 \pm 0,451 ^a
[TBA][Cl]	1	5,309 \pm 3,091 ^e	2,831 \pm 2,076 ^{ef}	-2,792 \pm 1,410 ^{ef}
	10	-6,654 \pm 3,593 ^f	-0,413 \pm 1,789 ^{ef}	3,092 \pm 2,933 ^{ef}
	100	17,184 \pm 3,374 ^d	17,085 \pm 0,397 ^d	22,117 \pm 4,494 ^d
	400	68,368 \pm 1,384 ^{bc}	57,385 \pm 0,087 ^c	59,295 \pm 0,936 ^c
	700	80,878 \pm 0,304 ^a	78,918 \pm 1,079 ^{ab}	77,710 \pm 4,507 ^{ab}
	1000	80,975 \pm 3,022 ^a	83,176 \pm 1,064 ^a	79,156 \pm 2,638 ^{ab}
[TOA][Cl]	1	1,603 \pm 0,628 ^{abcd}	2,828 \pm 0,025 ^{abcd}	2,752 \pm 0,949 ^{abcd}
	10	7,176 \pm 4,450 ^a	1,181 \pm 2,158 ^{abcd}	5,395 \pm 3,968 ^{abc}
	100	5,988 \pm 1,042 ^{ab}	3,651 \pm 3,434 ^{abcd}	-6,155 \pm 2,416 ^{cd}
	400	3,921 \pm 0,519 ^{abcd}	-6,045 \pm 3,542 ^{abcd}	2,271 \pm 3,334 ^{abcd}
	700	-4,643 \pm 1,716 ^{abcd}	-2,584 \pm 3,716 ^{abcd}	-6,348 \pm 4,531 ^{cd}
	1000	-7,113 \pm 0,487 ^d	-4,852 \pm 5,061 ^{abcd}	-3,024 \pm 2,010 ^{abcd}
[EMIM][Cl]	1	-0,978 \pm 3,888 ⁱ	-1,612 \pm 2,571 ⁱ	-2,307 \pm 1,618 ⁱ
	10	-5,323 \pm 2,664 ⁱ	-4,930 \pm 2,483 ⁱ	-6,460 \pm 0,995 ⁱ
	100	19,767 \pm 4,245 ^g	9,238 \pm 4,244 ^h	8,412 \pm 0,076 ^h
	400	51,355 \pm 3,270 ^{cd}	42,860 \pm 1,790 ^{ef}	36,511 \pm 0,992 ^f
	700	60,942 \pm 0,751 ^{ab}	57,489 \pm 2,592 ^{bc}	48,905 \pm 0,117 ^{de}
	1000	68,047 \pm 1,720 ^a	60,356 \pm 2,680 ^{ab}	59,081 \pm 0,233 ^{bc}
[BMIM][Cl]	1	3,207 \pm 2,451 ^{hi}	-2,265 \pm 1,603 ^{ij}	-6,909 \pm 4,443 ^j
	10	-1,924 \pm 2,164 ^{ij}	-1,508 \pm 2,398 ^{ij}	2,330 \pm 0,068 ^{hi}
	100	15,703 \pm 0,611 ^g	9,265 \pm 3,861 ^{gh}	3,099 \pm 3,331 ^{hi}
	400	47,410 \pm 1,680 ^{ef}	49,261 \pm 0,899 ^{de}	40,858 \pm 1,142 ^f
	700	60,748 \pm 0,324 ^{abc}	60,123 \pm 2,904 ^{bc}	53,688 \pm 1,260 ^{cde}
	1000	68,395 \pm 1,531 ^a	63,419 \pm 0,637 ^{ab}	56,152 \pm 0,911 ^{bcd}
[OMIM][Cl]	1	8,598 \pm 1,953 ^{ij}	-4,881 \pm 4,331 ^k	1,297 \pm 1,190 ^k
	10	9,350 \pm 1,471 ^{hi}	0,139 \pm 5,308 ^{jk}	-4,337 \pm 1,182 ^k
	100	32,465 \pm 8,268 ^f	21,307 \pm 2,967 ^g	17,821 \pm 0,444 ^{gh}
	400	65,370 \pm 2,015 ^{de}	57,718 \pm 1,502 ^e	63,708 \pm 0,627 ^{de}
	700	78,635 \pm 0,020 ^{ab}	68,231 \pm 0,992 ^{cd}	76,087 \pm 0,104 ^{bc}
	1000	85,160 \pm 0,779 ^a	79,091 \pm 1,179 ^{ab}	84,984 \pm 1,032 ^{ab}

Uzyskane wyniki badań znajdują potwierdzenie w dostępnej literaturze [10,21,27,96,98,102,106,107,223]. Według cytowanych autorów ciecze jonowe zastosowane w niższych stężeniach działają stymulująco na wzrost i rozwój roślin,

natomiast zastosowanie wyższych stężeń związków powoduje inhibicję wzrostu roślin, a co za tym idzie również plonu świeżej masy. Zjawisko takie zwane jest hormezą.

W literaturze naukowej wielokrotnie udowodniano, że istotnym czynnikiem wpływającym na toksyczność ILs jest długość łańcucha alkilowego w podstawniku. Studzińska i Buszewski [41] oraz Cvjetko Bubalo i wsp. [97] dowodzą, że toksyczność ILs wzrasta wraz z długością łańcucha alkilowego w podstawniku. W opozycji do tych badań stoją badania Matzke i wsp. [91] oraz Biczak i wsp. [21,230], którzy twierdzą, że toksyczność ILs dla roślin wyższych jest najwyższa dla związków z 3-6 atomami węgla w łańcuchu alkilowym. Dalsze wydłużanie łańcucha zmniejsza toksyczność tych związków dla roślin. Według autorów takie różnice wyników uzyskanych w prowadzonych badaniach mogą wynikać z rodzaju środowiska w jakim prowadzone są eksperymenty. W środowisku wodnym lub w przypadku prowadzenia badań w uprawach hydroponicznych toksyczność związku wzrasta wraz z długością łańcucha alkilowego w podstawniku. Związki posiadające podstawniki z większą ilością atomów węgla wykazują większe powinowactwo do błon biologicznych dzięki czemu mogą powodować ich rozszczelnienia i wnikać do wnętrza komórek. W przypadku dodawania związków chemicznych, takich jak ILs, do gleby pojawiają się ich interakcje ze środowiskiem glebowym. ILs z długimi łańcuchami alkilowymi są sorbowane w glebie i trwale wiązane przez koloidy glebowe, co zmniejsza ich ruchliwość i w znacznym stopniu ogranicza ich przenikanie do komórek roślinnych. Zależność ta jest bardzo dobrze widoczna w niniejszym eksperymencie w przypadku zastosowania amoniowych cieczy jonowych, gdzie [TOA][Cl] czyli związek z 8 atomami węgla w podstawniku wykazuje najmniejszą toksyczność ze wszystkich zastosowanych związków. Nie obserwujemy natomiast tego typu prawidłowości w przypadku imidazoliowych cieczy jonowych, z których to [OMIM][Cl] wykazuje najwyższą fitotoksyczność. Może to świadczyć o fakcie, że w przypadku badanych imidazoliowych ILs ich toksyczność uzależniona od długości łańcucha jest przesunięta w stosunku do amoniowych ILs i spadek toksyczności można by było obserwować dopiero przy związkach z kilkunastoma węglami w podstawniku. Trzeba również pamiętać, że zgodnie z danymi literaturowymi, ILs z kationami aromatycznymi (kation imidazoliowy) są bardziej toksyczne od soli alifatycznych, a ponadto o toksyczności decyduje też ilość atomów azotu w pierścieniu. Zastosowane w badaniach sole amoniowe zawierają jeden, centralnie położony atom azotu, wykazując tym samym symetrię, podczas gdy sole imidazoliowe charakteryzują się kationem niesymetrycznym, zawierającym dwa atomy azotu [81,82]. Stwierdzony zaś brak różnic w toksycznym oddziaływaniu wykorzystanych w eksperymencie wazonowych ILs w poszczególnych terminach analiz, wynika najprawdopodobniej z krótkiego, tygodniowego, odstępu pomiędzy kolejnymi badaniami. W tak krótkim czasie rośliny nie zdążyły uruchomić wszystkich mechanizmów obronnych, bądź nie były w stanie takiej obrony podjąć, a koloidy glebowe nie zdołały całkowicie zaabsorbować związków wprowadzonych do tego środowiska.

Toksyczny wpływ badanych ILs może być związany również z faktem, że badane związki są solami chlorkowymi. Wprowadzenie jonów chlorkowych do gleby może powodować jej zasolenie co również może mieć negatywny wpływ na wzrost i rozwój

roślin powodując stres oksydacyjny. Jony chlorkowe mogą być akumulowane przez rośliny wpływając tym samym negatywnie na ich gospodarkę wodną [111,130,192].

2.1.4. Analiza wyliczonych wartości EC_{50}

W celu uzyskania możliwości określenia toksyczności badanych związków i porównania wartości uzyskanych z różnych badań należy podać jakieś charakterystyczne wartości, które będzie można wykorzystać w takich szacunkach. W przypadku substancji chemicznych taką wartością będzie stężenie toksyczne wyrażane za pomocą wartości EC_{50} , IC_{50} lub wartości NOEC/LOEC. EC_{50} (z ang. *Effective Concentration*) to stężenie, które powoduje wystąpienie 50% reakcji toksycznej. NOEC (z ang. *No Observed Effect Concentration*) to najwyższe stężenie nie powodujące powstania efektów toksycznych, natomiast LOEC (z ang. *Lowest Observed Effect Concentration*) to najniższe stężenie substancji powodujące powstanie efektów toksycznych. Innym stosowanym wskaźnikiem w ocenie toksyczności jest IC_{50} (z ang. *Inhibition Concentration*), które określa stężenie powodujące osłabienie lub zahamowanie o połowę danego procesu (np. wzrostu). Zależność pomiędzy dawką danej substancji, a odpowiedzią organizmu na jej zastosowanie jest bardzo istotna w celu określenia poziomu ryzyka, czyli takiego doboru dawki i czasu ekspozycji na nią, dla których możliwość wystąpienia efektów toksycznych jest odpowiednio niska. W celu wyznaczenia, którejkolwiek z tych wartości należy wykonać szereg rozcieńczeń substancji badanej i przeprowadzić badania [212,213].

Na podstawie wartości inhibicji długości korzeni, części nadziemnych roślin oraz inhibicji plonu wyliczono wartości EC_{50} (Tabela 6). Czym wyższe uzyskano wartości EC_{50} dla poszczególnych związków, tym dany związek wykazuje mniejszą toksyczność w stosunku do siewek jęczmienia jarego. Dla [TOA][Cl] nie udało wyznaczyć się wartości EC_{50} ze względu na brak inhibitującego oddziaływania tego związku na analizowane parametry fitotoksyczności.

Tabela 6. Wartości EC_{50} ($mg \cdot kg^{-1}$ s.m. gleby) wyliczone na podstawie inhibicji plonu, długości korzeni i części nadziemnych roślin oszacowane w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs. W nawiasach zamieszczono półprzedziały ufności.

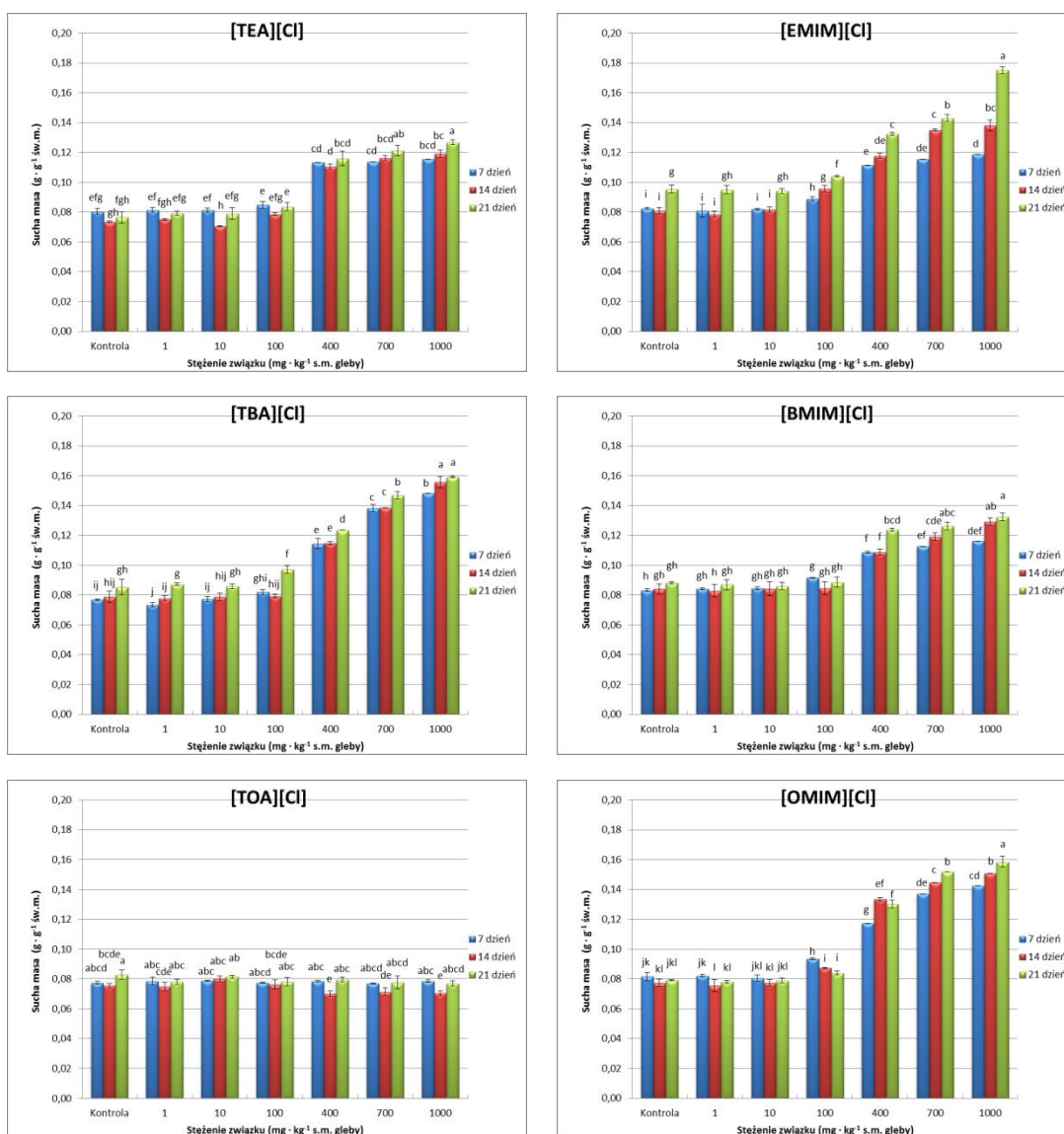
	7. dzień	14. dzień	21. dzień
[TEA][CI]			
Inhibicja plonu	303,8 ± 4,7 (189,8 – 486,3)	225,7 ± 6,6 (316,0 – 452,5)	195,3 ± 4,6 (189,8 – 486,3)
Inhibicja długości korzeni	305,1 ± 6,7 (178,0 – 521,6)	378,2 ± 5,6 (316,0 – 452,5)	382,8 ± 4,0 (313,3 – 467,6)
Inhibicja długości części nadziemnych	223,9 ± 4,4 (92,91 – 539,5)	635,0 ± 72,8 (9,923 – 9799)	658,0 ± 49,2 (3,992 – 10847)
[TBA][CI]			
Inhibicja plonu	193,7 ± 8,7 (63,40 – 591,9)	285,5 ± 11,0 (109,1 – 749,0)	261,8 ± 15,3 (63,47 – 1080)
Inhibicja długości korzeni	203,1 ± 2,1 (138,4 – 297,9)	230,1 ± 1,0 (163,3 – 324,2)	260,7 ± 2,1 (208,2 – 326,3)
Inhibicja długości części nadziemnych	438,4 ± 4,2 (341,4 – 562,9)	434,5 ± 6,7 (272,5 – 692,8)	419,0 ± 1,2 (370,3 – 474,0)
[TOA][CI]			
Inhibicja plonu	-	-	-
Inhibicja długości korzeni	-	-	-
Inhibicja długości części nadziemnych	-	-	-
[EMIM][CI]			
Inhibicja plonu	217,2 ± 11,0 (61,36 – 768,9)	273,8 ± 6,1 (136,6 – 548,6)	352,3 ± 12,9 (88,23 – 1407)
Inhibicja długości korzeni	215,7 ± 2,6 (89,08 – 522,3)	297,0 ± 2,6 (127,1 – 258,2)	305,4 ± 2,1 (63,89 – 428,9)
Inhibicja długości części nadziemnych	617,7 ± 28,6 (67,14 – 5682)	592,1 ± 30,3 (41,11 – 8529)	563,3 ± 8,0 (343,7 – 923,1)
[BMIM][CI]			
Inhibicja plonu	250,2 ± 8,9 (84,31 – 742,6)	249,0 ± 0,6 (232,6 – 266,5)	277,6 ± 7,1 (109,1 – 706,6)
Inhibicja długości korzeni	266,9 ± 1,5 (288,4 – 312,0)	427,8 ± 3,6 (352,4 – 519,3)	434,0 ± 8,5 (296,2 – 630,0)
Inhibicja długości części nadziemnych	613,9 ± 23,7 (45,05 – 8366)	372,5 ± 6,7 (200,9 – 690,9)	438,1 ± 8,8 (161,6 – 1188)
[OMIM][CI]			
Inhibicja plonu	273,0 ± 5,1 (163,9 – 454,8)	331,1 ± 17,7 (67,24 – 1931)	244,9 ± 9,2 (104,2 – 573,2)
Inhibicja długości korzeni	132,7 ± 4,9 (69,88 – 251,9)	185,5 ± 2,1 (135,6 – 253,8)	180,4 ± 1,3 (147,6 – 220,5)
Inhibicja długości części nadziemnych	692,2 ± 32,0 (74,88 – 6399)	613,9 ± 20,2 (24,42 – 4126)	568,1 ± 6,0 (390,0 – 827,7)

Z analizy obliczonych wartości EC_{50} wynika, że organem najbardziej wrażliwym na obecność w glebie ILs są korzenie roślin, a wartości EC_{50} wyliczone na podstawie inhibicji długości części nadziemnych roślin wskazują, że ten biomarker fitotoksyczności jest najmniej wrażliwy na zastosowane ILs. Tak, jak już wcześniej

wspominano, korzeń to organ mający jako pierwszy kontakt z zanieczyszczeniami znajdującymi się w glebie, więc jako pierwszy na nie reaguje, a ponadto jest cały czas narażony na wszelkie substancje szkodliwe znajdujące się w glebie. Taki ciągły kontakt z substancjami szkodliwymi może prowadzić do uszkodzenia błony komórkowej korzeni, czego efektem jest wnikanie toksyn w głąb korzeni i ich dalszy transport do pozostałych organów rośliny [230].

2.2. Zmiany poziomu suchej masy w siewkach jęczmienia jarego

Jednym z istotniejszych biomarkerów toksyczności związków chemicznych są zmiany poziomu suchej masy roślin eksperymentalnych. W prowadzonych badaniach zaobserwowano wzrost zawartości suchej masy po zastosowaniu ILs w stężeniach 400, 700 i 1000 mg·kg⁻¹ s.m. gleby. Wzrost zawartości suchej masy był tym większy, im wyższe stężenie badanych ILs zastosowano. Zaobserwowano również, że zawartość suchej masy w siewkach jęczmienia jarego z reguły wzrastała w kolejnych terminach prowadzenia badań, czyli można stwierdzić, że im roślina była starsza, tym zawartość suchej masy była większa. Największy wpływ na zawartość suchej masy miał [OMIM][Cl], który w przypadku zastosowania najwyższego stężenia związku w 14. i 21. dniu prowadzenia badań, prowadził do ok. 100% wzrostu poziomu suchej masy w stosunku do obiektów kontrolnych. Jedynie zastosowanie [TOA][Cl] nie powodowało większych zmian w zawartości suchej masy u roślin eksperymentalnych (Rys. 22).



Rys. 22. Zmiany suchej masy ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ św.m.) siewek jęczmienia jarego po wprowadzeniu do gleby określonych ilości ILs (w $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. gleby) (średnia \pm odch. stand.; $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Obserwacje dokonane w omawianym eksperymencie znalazły potwierdzenie w dostępnej literaturze. Bałczewski i wsp. [10], Biczak i wsp. [21,106-108], Pawłowska i wsp. [101] obserwowali wręcz liniowy wzrost poziomu suchej masy roślin, dodatnio skorelowany ze wzrostem stężenia badanych związków w glebie. Takie zmiany zawartości suchej masy mogą być związane z faktem, że zastosowanie większych ilości badanych związków powoduje zasolenie gleby, co z kolei prowadzi do utrudnienia w pobieraniu wody, a także utrudnia jej dostępność. W konsekwencji następuje obniżenie turgoru komórek roślinnych czego efektem jest obserwowana akumulacja suchej masy. W opozycji do omawianych badań stoją wyniki uzyskane przez Liu i wsp. [96], którzy analizując zawartość suchej masy w roślinach bobu pod wpływem chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego, zaobserwowali spadek zawartości suchej masy. W badaniach mających na celu określenie wpływu tetrafluoroboranu amonu

i heksafluorofosforanu amonu dla chwastów [231] także zaobserwowano różny wpływ tych substancji na zawartość suchej masy. Kierunek zmian poziomu suchej masy uzależniony był zarówno od zastosowanego związku, ale także od gatunku rośliny na którą dany związek działał. Oprysk roślin żółtlicy drobnokwiatowej roztworami tetrafluoroboranu amonu spowodował spadek zawartości suchej masy roślin w stosunku do kontroli. Spadek ten był tym większy, im wyższe stężenie badanego związku zastosowano. Zastosowanie tego samego związku w postaci oprysku na rośliny komosy białej i szczawiu zwyczajnego powodowało natomiast wzrost zawartości suchej masy u tych roślin. Wynika z tego, że kierunek zmian zawartości suchej masy jest zależny od gatunku rośliny, od rodzaju zastosowanego związku, od sposobu zastosowania tej substancji oraz od tego w jakich warunkach prowadzone były badania tzn. czy była to uprawa hydroponiczna czy eksperyment prowadzony był w warunkach jak najbardziej zbliżonych do naturalnych, a rośliny rosły w glebie.

2.3. Wpływ badanych cieczy jonowych na zawartość barwników asymilacyjnych w siewkach jęczmienia jarego

Fotosynteza to jeden z podstawowych i najważniejszych biochemicznych procesów przebiegających na Ziemi. Proces ten polega na wytwarzaniu związków organicznych (glukoza) z materii nieorganicznej (dwutlenku węgla i wody), zachodzący przy udziale światła w komórkach zawierających chlorofil lub bakteriochlorofil. W komórkach eukariotycznych proces fotosyntezy przebiega w chloroplastach czyli wyspecjalizowanych organellach zawierających barwniki asymilacyjne. Barwnikami asymilacyjnymi występującymi u roślin są chlorofile i karotenoidy. Znajdują się one w tylakoidach i są połączone z białkami. „Hydrofobowy ogon” jest wbudowany w błonę tylakoidu natomiast pierścień porfirykowy absorbuje światło. Barwniki te różnią się budową, właściwościami, zakresem adsorbowanego światła, które mogą pochłaniać oraz pełnionymi funkcjami. Chlorofil *a* wchodzi w skład fotosystemu PSI i PSII, a chlorofil *b* jedynie w skład fotosystemu PSII. Jedynym barwnikiem wykazującym możliwość przeprowadzenia reakcji fotochemicznej jest chlorofil *a*. Chlorofil *b* i karotenoidy (karoteny i ksantofile), określane często mianem barwników antenowych, odpowiadają za wychwytywanie energii i przekazywanie jej do centrum reakcji. Karotenoidy pełnią ponadto funkcję ochronną, polegającą na rozpraszaniu nadmiaru energii, która dostarczona została do centrów fotoukładów [112,140,142,232].

Ze względu na duże ilości energii pochłanianej przez barwniki asymilacyjne, chloroplasty są organellami bardzo podatnymi na nadprodukcję RFT. Zbyt niska wydajność mechanizmów fotoochronnych w stosunku do wytwarzanego RFT powoduje reakcje wzbudzonego chlorofilu m.in. z tlenem, w wyniku czego powstają wolne rodniki tj. tlen singletowy. Powstające w nadmiernych ilościach RFT uszkadzają białka wchodzące w skład fotosystemu PSII prowadząc do zaburzeń w jego funkcjonowaniu, czego efektem jest obniżenie wydajności fotosyntezy, a co za tym idzie wzrostu i rozwoju roślin [130,132,232].

Ze względu na olbrzymie znaczenie procesu fotosyntezy zawartość barwników asymilacyjnych jest jednym z podstawowych parametrów, który jest określany w celu

oceny wpływu różnych czynników na rośliny. W wyniku przeprowadzonych badań dokonano oceny wpływu badanych ILs na zawartość chlorofilu *a* i *b*, karotenoidów oraz określono całkowitą zawartość chlorofili (Tabela 7-10).

Tabela 7. Zawartość chlorofilu *a* ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m.) w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Stężenie ILs [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. gleby]	7. dzień	14. dzień	21. dzień	7. dzień	14. dzień	21. dzień
[TEA][CI]			[EMIM][CI]			
0 (Kontrola)	13,486 \pm 0,096 ^{bc}	13,411 \pm 0,028 ^{bc}	11,223 \pm 0,021 ^{gh}	14,709 \pm 0,116 ^a	12,101 \pm 0,124 ^{bc}	9,850 \pm 0,069 ^g
1	12,886 \pm 0,026 ^{de}	15,241 \pm 0,170 ^a	12,258 \pm 0,050 ^f	12,364 \pm 0,037 ^b	11,711 \pm 0,111 ^d	9,353 \pm 0,092 ^h
10	12,485 \pm 0,060 ^{ef}	15,377 \pm 0,118 ^a	13,289 \pm 0,042 ^{cd}	12,037 \pm 0,141 ^c	10,948 \pm 0,135 ^e	8,580 \pm 0,057 ⁱ
100	12,344 \pm 0,041 ^f	13,870 \pm 0,191 ^b	12,841 \pm 0,037 ^{de}	11,966 \pm 0,023 ^{cd}	9,863 \pm 0,105 ^g	8,279 \pm 0,081 ^j
400	10,809 \pm 0,017 ^h	11,535 \pm 0,088 ^g	9,301 \pm 0,442 ^{ij}	10,248 \pm 0,012 ^f	7,729 \pm 0,033 ^k	5,521 \pm 0,030 ⁿ
700	11,009 \pm 0,013 ^{gh}	9,392 \pm 0,112 ⁱ	8,901 \pm 0,264 ^j	8,188 \pm 0,111 ^j	7,363 \pm 0,069 ^l	4,495 \pm 0,132 ^o
1000	9,484 \pm 0,024 ⁱ	9,276 \pm 0,097 ^{ij}	8,402 \pm 0,340 ^k	7,569 \pm 0,044 ^{kl}	6,731 \pm 0,077 ^m	4,040 \pm 0,054 ^p
[TBA][CI]			[BMIM][CI]			
0 (Kontrola)	13,289 \pm 0,079 ^{cd}	13,930 \pm 0,002 ^{ab}	12,548 \pm 0,078 ^e	13,316 \pm 0,133 ^c	14,441 \pm 0,177 ^a	12,472 \pm 0,122 ^{ef}
1	14,057 \pm 0,500 ^{ab}	14,270 \pm 0,007 ^a	13,129 \pm 0,093 ^{cd}	13,710 \pm 0,133 ^b	13,748 \pm 0,162 ^b	12,307 \pm 0,155 ^{ef}
10	13,614 \pm 0,040 ^{bc}	13,068 \pm 0,027 ^d	12,819 \pm 0,065 ^{de}	12,846 \pm 0,124 ^{de}	13,239 \pm 0,109 ^c	11,638 \pm 0,024 ^g
100	11,870 \pm 0,078 ^f	12,561 \pm 0,043 ^e	11,272 \pm 0,047 ^g	12,480 \pm 0,216 ^{ef}	12,976 \pm 0,128 ^{cd}	11,151 \pm 0,100 ^h
400	8,050 \pm 0,025 ⁱ	8,907 \pm 0,320 ^h	8,912 \pm 0,305 ^h	11,246 \pm 0,070 ^h	11,088 \pm 0,136 ^h	10,441 \pm 0,093 ⁱ
700	6,874 \pm 0,057 ^j	6,434 \pm 0,188 ^{jk}	4,881 \pm 0,070 ^l	10,565 \pm 0,115 ⁱ	8,085 \pm 0,072 ^k	7,655 \pm 0,124 ^l
1000	6,305 \pm 0,085 ^k	6,330 \pm 0,015 ^k	4,996 \pm 0,069 ^l	10,042 \pm 0,062 ^j	7,929 \pm 0,092 ^{kl}	6,851 \pm 0,027 ^m
[TOA][CI]			[OMIM][CI]			
0 (Kontrola)	12,505 \pm 0,251 ^d	12,548 \pm 0,075 ^d	10,079 \pm 0,053 ^{gh}	12,900 \pm 0,123 ^{de}	14,264 \pm 0,007 ^a	12,191 \pm 0,031 ^{fg}
1	13,032 \pm 0,353 ^{cd}	14,108 \pm 0,452 ^b	11,184 \pm 0,411 ^{ef}	12,600 \pm 0,468 ^{def}	13,641 \pm 0,104 ^{bc}	12,626 \pm 0,062 ^{def}
10	14,299 \pm 0,222 ^{ab}	12,742 \pm 0,115 ^d	10,733 \pm 0,221 ^{fg}	12,558 \pm 0,122 ^{ef}	13,783 \pm 0,066 ^{ab}	11,358 \pm 0,093 ^h
100	14,114 \pm 0,265 ^b	14,168 \pm 0,029 ^{ab}	11,690 \pm 0,362 ^e	11,448 \pm 0,111 ^h	13,113 \pm 0,541 ^{cd}	11,778 \pm 0,114 ^{gh}
400	14,372 \pm 0,287 ^{ab}	14,965 \pm 0,126 ^a	11,310 \pm 0,269 ^{ef}	8,609 \pm 0,017 ⁱ	7,318 \pm 0,029 ^j	6,268 \pm 0,022 ^{lm}
700	13,685 \pm 0,052 ^{bc}	14,191 \pm 0,303 ^{ab}	9,394 \pm 0,310 ^{hi}	6,849 \pm 0,020 ^{jk}	6,468 \pm 0,067 ^{kl}	5,748 \pm 0,198 ^m
1000	13,066 \pm 0,164 ^{cd}	12,904 \pm 0,302 ^{cd}	8,907 \pm 0,180 ⁱ	6,008 \pm 0,005 ^{lm}	6,963 \pm 0,049 ^{jk}	5,837 \pm 0,079 ^m

Tabela 8. Zawartość chlorofilu *b* ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m.) w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Stężenie ILs [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. gleby]	7. dzień	14. dzień	21. dzień	7. dzień	14. dzień	21. dzień
[TEA][CI]			[EMIM][CI]			
0 (Kontrola)	$3,630 \pm 0,025^{bc}$	$3,492 \pm 0,009^{cd}$	$2,925 \pm 0,055^h$	$3,600 \pm 0,075^a$	$3,076 \pm 0,029^{bc}$	$2,549 \pm 0,040^f$
1	$3,359 \pm 0,037^{def}$	$3,941 \pm 0,029^a$	$3,142 \pm 0,037^{fgh}$	$3,090 \pm 0,031^b$	$2,975 \pm 0,005^{cd}$	$2,507 \pm 0,015^f$
10	$3,322 \pm 0,034^{def}$	$3,837 \pm 0,118^{ab}$	$3,360 \pm 0,048^{def}$	$2,999 \pm 0,049^{bcd}$	$2,759 \pm 0,015^e$	$2,206 \pm 0,028^g$
100	$3,172 \pm 0,030^{efg}$	$3,387 \pm 0,071^{de}$	$3,310 \pm 0,053^{def}$	$2,969 \pm 0,032^d$	$2,493 \pm 0,002^f$	$2,225 \pm 0,005^g$
400	$2,969 \pm 0,014^{gh}$	$2,965 \pm 0,045^{ij}$	$2,395 \pm 0,109^{jk}$	$2,560 \pm 0,029^f$	$1,808 \pm 0,035^i$	$1,405 \pm 0,016^k$
700	$3,008 \pm 0,007^{gh}$	$2,478 \pm 0,044^{jk}$	$2,320 \pm 0,074^k$	$2,039 \pm 0,026^h$	$1,756 \pm 0,043^i$	$1,064 \pm 0,072^l$
1000	$2,657 \pm 0,006^i$	$2,346 \pm 0,027^{jk}$	$2,167 \pm 0,036^k$	$1,827 \pm 0,018^i$	$1,584 \pm 0,026^j$	$0,964 \pm 0,001^l$
[TBA][CI]			[BMIM][CI]			
0 (Kontrola)	$3,382 \pm 0,052^{bc}$	$3,401 \pm 0,018^{bc}$	$3,180 \pm 0,002^{de}$	$3,069 \pm 0,039^{cd}$	$3,503 \pm 0,052^a$	$3,048 \pm 0,028^{cd}$
1	$3,600 \pm 0,133^a$	$3,328 \pm 0,043^{cd}$	$3,174 \pm 0,022^{de}$	$3,213 \pm 0,043^b$	$3,419 \pm 0,045^a$	$2,964 \pm 0,010^{de}$
10	$3,543 \pm 0,030^{ab}$	$3,058 \pm 0,081^{ef}$	$3,091 \pm 0,037^{ef}$	$2,931 \pm 0,048^e$	$3,225 \pm 0,040^b$	$2,752 \pm 0,010^{fg}$
100	$2,985 \pm 0,034^{fg}$	$3,065 \pm 0,089^{ef}$	$2,844 \pm 0,025^g$	$2,859 \pm 0,045^{ef}$	$3,131 \pm 0,037^{bc}$	$2,703 \pm 0,042^g$
400	$2,106 \pm 0,010^h$	$2,129 \pm 0,093^h$	$2,225 \pm 0,123^h$	$2,672 \pm 0,007^{gh}$	$2,746 \pm 0,025^g$	$2,578 \pm 0,017^{hi}$
700	$1,830 \pm 0,025^i$	$1,501 \pm 0,037^j$	$1,084 \pm 0,021^k$	$2,467 \pm 0,028^{ij}$	$1,919 \pm 0,050^k$	$1,817 \pm 0,037^k$
1000	$1,686 \pm 0,027^i$	$1,449 \pm 0,011^j$	$1,117 \pm 0,021^k$	$2,374 \pm 0,038^j$	$1,908 \pm 0,040^k$	$1,624 \pm 0,018^l$
[TOA][CI]			[OMIM][CI]			
0 (Kontrola)	$3,264 \pm 0,033^g$	$3,350 \pm 0,056^{efg}$	$2,538 \pm 0,029^{ij}$	$3,502 \pm 0,017^a$	$3,574 \pm 0,033^a$	$2,757 \pm 0,016^g$
1	$3,361 \pm 0,055^{defg}$	$3,862 \pm 0,131^{ab}$	$2,794 \pm 0,029^h$	$3,256 \pm 0,130^{cd}$	$3,314 \pm 0,026^{bc}$	$3,047 \pm 0,006^{ef}$
10	$3,574 \pm 0,077^{cde}$	$3,507 \pm 0,044^{def}$	$2,700 \pm 0,046^{hi}$	$3,377 \pm 0,015^b$	$3,513 \pm 0,022^a$	$2,600 \pm 0,045^h$
100	$3,581 \pm 0,004^{cd}$	$3,737 \pm 0,012^{bc}$	$2,831 \pm 0,097^h$	$2,983 \pm 0,053^f$	$3,142 \pm 0,011^{de}$	$2,538 \pm 0,012^h$
400	$3,574 \pm 0,069^{cde}$	$3,488 \pm 0,101^{defg}$	$2,896 \pm 0,104^h$	$2,229 \pm 0,014^i$	$1,841 \pm 0,017^j$	$1,259 \pm 0,003^m$
700	$3,501 \pm 0,033^{def}$	$4,015 \pm 0,075^a$	$2,403 \pm 0,090^j$	$1,863 \pm 0,005^j$	$1,536 \pm 0,032^l$	$1,173 \pm 0,017^m$
1000	$3,311 \pm 0,042^{fg}$	$3,769 \pm 0,129^{bc}$	$2,326 \pm 0,082^j$	$1,606 \pm 0,019^{kl}$	$1,715 \pm 0,032^k$	$1,176 \pm 0,027^m$

Tabela 9. Zawartość karotenoidów ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m.) w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Stężenie ILs [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. gleby]	7. dzień	14. dzień	21. dzień	7. dzień	14. dzień	21. dzień
[TEA][CI]			[EMIM][CI]			
0 (Kontrola)	$3,193 \pm 0,034^c$	$3,395 \pm 0,015^b$	$2,731 \pm 0,003^g$	$3,193 \pm 0,032^a$	$3,170 \pm 0,022^a$	$2,510 \pm 0,010^{ef}$
1	$3,027 \pm 0,017^{ef}$	$3,771 \pm 0,040^a$	$2,992 \pm 0,003^{ef}$	$2,647 \pm 0,014^d$	$3,073 \pm 0,042^b$	$2,403 \pm 0,031^g$
10	$2,974 \pm 0,019^{ef}$	$3,859 \pm 0,056^a$	$3,170 \pm 0,016^{cd}$	$2,570 \pm 0,028^e$	$2,821 \pm 0,025^c$	$2,260 \pm 0,023^h$
100	$2,938 \pm 0,018^f$	$3,438 \pm 0,048^b$	$3,059 \pm 0,017^{de}$	$2,465 \pm 0,012^{fg}$	$2,671 \pm 0,019^d$	$2,135 \pm 0,036^i$
400	$2,324 \pm 0,007^h$	$2,632 \pm 0,019^g$	$2,196 \pm 0,099^i$	$2,011 \pm 0,012^j$	$1,866 \pm 0,022^k$	$1,493 \pm 0,009^n$
700	$2,333 \pm 0,010^h$	$2,121 \pm 0,017^{ij}$	$2,052 \pm 0,055^j$	$1,594 \pm 0,020^{lm}$	$1,654 \pm 0,018^l$	$1,171 \pm 0,041^o$
1000	$2,098 \pm 0,005^{ij}$	$2,131 \pm 0,018^{ij}$	$1,860 \pm 0,075^k$	$1,454 \pm 0,009^n$	$1,527 \pm 0,025^{mn}$	$1,056 \pm 0,023^p$
[TBA][CI]			[BMIM][CI]			
0 (Kontrola)	$3,155 \pm 0,068^{de}$	$3,404 \pm 0,022^{ab}$	$3,066 \pm 0,033^e$	$3,380 \pm 0,036^b$	$3,568 \pm 0,040^a$	$3,200 \pm 0,020^d$
1	$3,211 \pm 0,112^{cd}$	$3,485 \pm 0,011^a$	$3,390 \pm 0,010^{ab}$	$3,460 \pm 0,029^{ab}$	$3,507 \pm 0,051^a$	$2,913 \pm 0,027^e$
10	$3,165 \pm 0,014^{de}$	$3,127 \pm 0,026^{de}$	$3,344 \pm 0,034^{bc}$	$3,251 \pm 0,028^{cd}$	$3,391 \pm 0,023^b$	$2,874 \pm 0,075^e$
100	$2,741 \pm 0,022^f$	$3,143 \pm 0,057^{de}$	$3,044 \pm 0,048^e$	$3,221 \pm 0,057^d$	$3,351 \pm 0,031^{bc}$	$2,745 \pm 0,071^f$
400	$1,739 \pm 0,005^i$	$2,005 \pm 0,077^h$	$2,212 \pm 0,079^g$	$2,676 \pm 0,019^{fg}$	$2,628 \pm 0,029^{gh}$	$2,542 \pm 0,016^{hi}$
700	$1,420 \pm 0,006^j$	$1,410 \pm 0,043^{jk}$	$1,269 \pm 0,031^l$	$2,451 \pm 0,027^i$	$1,941 \pm 0,011^k$	$1,965 \pm 0,034^k$
1000	$1,319 \pm 0,016^{jkl}$	$1,419 \pm 0,009^j$	$1,278 \pm 0,018^{kl}$	$2,274 \pm 0,009^j$	$1,948 \pm 0,022^k$	$1,740 \pm 0,007^l$
[TOA][CI]			[OMIM][CI]			
0 (Kontrola)	$3,651 \pm 0,069^d$	$2,991 \pm 0,024^{hi}$	$2,648 \pm 0,032^j$	$2,863 \pm 0,047^f$	$3,492 \pm 0,009^a$	$3,253 \pm 0,023^{bc}$
1	$3,760 \pm 0,096^{cd}$	$3,396 \pm 0,112^{ef}$	$2,927 \pm 0,078^{hi}$	$2,888 \pm 0,105^{ef}$	$3,245 \pm 0,040^{bc}$	$3,212 \pm 0,173^{bc}$
10	$4,145 \pm 0,035^a$	$3,084 \pm 0,030^{gh}$	$2,803 \pm 0,070^{ij}$	$2,881 \pm 0,051^{ef}$	$3,352 \pm 0,016^{ab}$	$3,034 \pm 0,022^{de}$
100	$4,022 \pm 0,072^{ab}$	$3,410 \pm 0,002^{ef}$	$3,008 \pm 0,100^{gh}$	$2,641 \pm 0,022^g$	$3,138 \pm 0,026^{cd}$	$3,123 \pm 0,037^{cd}$
400	$4,071 \pm 0,083^{ab}$	$3,441 \pm 0,036^e$	$2,909 \pm 0,073^{hi}$	$1,800 \pm 0,003^h$	$1,654 \pm 0,006^{hi}$	$1,685 \pm 0,005^h$
700	$3,924 \pm 0,023^{bc}$	$3,208 \pm 0,050^{fg}$	$2,343 \pm 0,082^k$	$1,375 \pm 0,007^{jk}$	$1,423 \pm 0,014^{ik}$	$1,467 \pm 0,028^j$
1000	$3,741 \pm 0,052^{cd}$	$2,982 \pm 0,077^{hi}$	$2,220 \pm 0,032^k$	$1,293 \pm 0,006^k$	$1,494 \pm 0,011^j$	$1,529 \pm 0,018^{ij}$

Tabela 10. Zawartość chlorofilu całkowitego (chlorofil *a* + chlorofil *b*) ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m.) w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Stężenie ILs [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. gleby]	7. dzień	14. dzień	21. dzień	7. dzień	14. dzień	21. dzień
[TEA][CI]			[EMIM][CI]			
0 (Kontrola)	17,116 \pm 0,116 ^{gh}	16,903 \pm 0,035 ^{gh}	14,148 \pm 0,076 ^{gh}	18,309 \pm 0,192 ^a	15,178 \pm 0,125 ^{bc}	12,399 \pm 0,103 ^g
1	16,246 \pm 0,055 ^f	19,182 \pm 0,163 ^f	15,400 \pm 0,078 ^f	15,454 \pm 0,011 ^b	14,686 \pm 0,112 ^d	11,860 \pm 0,105 ^h
10	15,807 \pm 0,073 ^{cd}	19,214 \pm 0,140 ^{cd}	16,649 \pm 0,086 ^{cd}	15,037 \pm 0,174 ^c	13,708 \pm 0,149 ^e	10,786 \pm 0,082 ⁱ
100	15,517 \pm 0,065 ^{de}	17,257 \pm 0,263 ^{de}	16,152 \pm 0,086 ^{de}	14,935 \pm 0,027 ^{cd}	12,356 \pm 0,107 ^g	10,504 \pm 0,087 ^{ij}
400	13,778 \pm 0,031 ^{ij}	14,500 \pm 0,131 ^{ij}	11,695 \pm 0,551 ^{ij}	12,808 \pm 0,037 ^f	9,537 \pm 0,065 ^k	6,926 \pm 0,045 ⁿ
700	14,017 \pm 0,020 ^j	11,870 \pm 0,154 ^j	11,221 \pm 0,338 ^j	10,227 \pm 0,136 ^j	9,119 \pm 0,056 ^l	5,559 \pm 0,203 ^o
1000	12,141 \pm 0,025 ^k	11,623 \pm 0,119 ^k	10,569 \pm 0,373 ^k	9,395 \pm 0,026 ^{kl}	8,315 \pm 0,053 ^m	5,004 \pm 0,056 ^p
[TBA][CI]			[BMIM][CI]			
0 (Kontrola)	16,671 \pm 0,042 ^{bc}	17,331 \pm 0,016 ^a	15,638 \pm 0,080 ^e	16,385 \pm 0,158 ^c	17,944 \pm 0,212 ^a	15,519 \pm 0,124 ^{ef}
1	17,657 \pm 0,632 ^a	17,598 \pm 0,046 ^a	16,303 \pm 0,115 ^{cd}	16,922 \pm 0,176 ^b	17,166 \pm 0,133 ^b	15,270 \pm 0,163 ^f
10	17,158 \pm 0,063 ^{ab}	16,127 \pm 0,056 ^{cd}	15,910 \pm 0,080 ^{de}	15,777 \pm 0,169 ^{de}	16,465 \pm 0,148 ^c	14,390 \pm 0,014 ^g
100	14,855 \pm 0,105 ^f	15,627 \pm 0,132 ^e	14,116 \pm 0,034 ^g	15,339 \pm 0,261 ^{ef}	16,107 \pm 0,125 ^{cd}	13,854 \pm 0,141 ^h
400	10,156 \pm 0,015 ⁱ	11,036 \pm 0,412 ^h	11,137 \pm 0,429 ^h	13,918 \pm 0,075 ^h	13,834 \pm 0,155 ^h	13,019 \pm 0,107 ⁱ
700	8,705 \pm 0,080 ^j	7,935 \pm 0,221 ^k	5,965 \pm 0,084 ^l	13,031 \pm 0,143 ⁱ	10,004 \pm 0,036 ^k	9,471 \pm 0,158 ^l
1000	7,991 \pm 0,107 ^k	7,779 \pm 0,024 ^k	6,113 \pm 0,069 ^l	12,416 \pm 0,099 ^j	9,837 \pm 0,130 ^{kl}	8,475 \pm 0,028 ^m
[TOA][CI]			[OMIM][CI]			
0 (Kontrola)	15,769 \pm 0,283 ^d	15,898 \pm 0,127 ^d	12,617 \pm 0,072 ^{gh}	16,402 \pm 0,106 ^{cd}	17,846 \pm 0,039 ^a	14,948 \pm 0,030 ^f
1	16,394 \pm 0,404 ^{cd}	17,971 \pm 0,583 ^{ab}	13,978 \pm 0,389 ^{ef}	15,856 \pm 0,597 ^{de}	16,954 \pm 0,123 ^{bc}	15,673 \pm 0,067 ^e
10	17,873 \pm 0,298 ^{ab}	16,250 \pm 0,156 ^{cd}	13,433 \pm 0,267 ^{fg}	15,936 \pm 0,121 ^{de}	17,296 \pm 0,086 ^{ab}	13,957 \pm 0,133 ^g
100	17,695 \pm 0,263 ^{ab}	17,905 \pm 0,017 ^{ab}	14,522 \pm 0,459 ^e	14,431 \pm 0,161 ^{fg}	16,255 \pm 0,532 ^{de}	14,316 \pm 0,122 ^a
400	17,946 \pm 0,355 ^{ab}	18,453 \pm 0,226 ^a	14,205 \pm 0,373 ^{ef}	10,838 \pm 0,030 ^h	9,158 \pm 0,044 ⁱ	7,545 \pm 0,024 ^{jk}
700	17,186 \pm 0,072 ^{bc}	18,206 \pm 0,377 ^a	11,797 \pm 0,399 ^{hi}	8,685 \pm 0,021 ⁱ	8,004 \pm 0,095 ^j	6,921 \pm 0,188 ^l
1000	16,377 \pm 0,204 ^{cd}	16,673 \pm 0,427 ^{cd}	11,233 \pm 0,258 ⁱ	7,614 \pm 0,019 ^{jk}	8,678 \pm 0,075 ⁱ	7,014 \pm 0,103 ^{kl}

W wyniku przeprowadzonych badań zaobserwowano spadek zawartości zarówno chlorofilu *a*, *b*, karotenoidów jak i chlorofilu całkowitego, a zmiany te były dodatnio skorelowane ze wzrostem stężenia badanych ILs w glebie. Jedynie zastosowanie niskich stężeń związków, takich jak $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. gleby spowodowało niewielki wzrost zawartości badanych barwników w stosunku do kontroli. Obserwowano również wpływ czasu prowadzenia badań na zawartość barwników asymilacyjnych u siewek jęczmienia jarego. W przypadku 7. i 14. dnia od wysiania nasion do gleby, zmiany zawartości chlorofilu i karotenoidów były niewielkie i często obserwowany był nieznaczny wzrost zawartości tych barwników w siewkach jęczmienia jarego, głównie na obiektach, na których zastosowano niższe stężenia zwłaszcza soli amoniowych. Analizując natomiast zawartość barwników w 21. dniu prowadzenia badań, w przypadku wszystkich zastosowanych związków obserwowano spadek zawartości tych barwników, w stosunku do ich poziomu stwierdzonego we wcześniejszych terminach badań. Podobnie, jak w przypadku wcześniej omawianych parametrów fitotoksyczności, nie obserwowano również wpływu [TOA][Cl] na zawartość barwników asymilacyjnych w siewkach jęczmienia jarego, nawet przy zastosowaniu najwyższych stężeń badanego związku. Największy wpływ na zawartość barwników asymilacyjnych w siewkach jęczmienia jarego wykazały natomiast [TBA][Cl] oraz wszystkie sole imidazoliowe. Po zastosowaniu wymienionych ILs w stężeniach $700\text{-}1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. gleby obserwowano około 50% spadek zawartości barwników asymilacyjnych w stosunku do kontroli.

Potwierdzeniem uzyskanych wyników badań własnych jest szereg doniesień literaturowych, w których również obserwowano spadek zawartości barwników asymilacyjnych w roślinach, pod wpływem różnych substancji chemicznych. Analizując oddziaływanie ILs, czy czwartorzędowych soli amoniowych (CSA), stwierdzono obniżenie się poziomu barwników fotosyntetycznych w pszenicy [98,113], kukurydzy [3], liściach bobu [102], jęczmieniu [101,192,233], rzodkiewce zwyczajnej [21,232] i rzęsie drobnej [234]. Badacze obserwujący inhibitujący wpływ badanych związków na zawartość barwników asymilacyjnych, tłumaczą te zmiany degradacją cząsteczek chlorofilu wywołaną przez ILs oraz zahamowaniem syntezy chlorofilu. Wpływ badanych związków na zawartość barwników asymilacyjnych uzależniony jest ponadto od rodzaju związku i zastosowanego stężenia oraz gatunku rośliny na którą on oddziałuje, dlatego Tot i wsp. [227] nie obserwowali istotnego wpływu różnych ILs na zawartość barwników asymilacyjnych w liściach ogórka.

Korzystając z uzyskanych danych dotyczących zawartości barwników asymilacyjnych obliczono również stosunek zawartości chlorofilu *a* do *b* (Tabela 11). Wartości te stanowią istotny wskaźnik zmian fizjologicznych zachodzących w roślinach. Wzrost wartości stosunku chlorofilu *a* do *b* stanowi niezawodny wskaźnik stresu oksydacyjnego u roślin. Zmiana taka może również wynikać z niedoboru żelaza, spowodowanego zaburzeniem w pobieraniu i gromadzeniu substancji mineralnych przez silnie zredukowany system korzeniowy. Natomiast spadek tego parametru może być spowodowany przez różne czynniki. Może on wynikać ze spadku zawartości chlorofilu *a* co świadczy o dużym uszkodzeniu fotosystemów i związaną z tym fotoinhibicją. Powodem obniżenia tego parametru może być także wzrost zawartości

chlorofilu *b*, który świadczy o korzystnych zmianach zachodzących w roślinie i o odpowiednim poziomie wychwytywania światła. W normalnych warunkach stosunek zawartości chlorofilu *a* do *b* wynosi ok. 3,5 [60,93,235-237].

W przypadku przeprowadzonych badań nie obserwowano większych zmian wartości stosunku chlorofilu *a* do chlorofilu *b*. Jedynie po zastosowaniu [TBA][Cl] oraz [OMIM][Cl] w trzecim terminie badań obserwujemy niewielki wzrost tego parametru, co może świadczyć o zaistniałym stresie oksydacyjnym u roślin.

Kolejnym, istotnym wskaźnikiem świadczącym o zmianach fizjologicznych zachodzących u roślin, jest stosunek zawartości chlorofilu całkowitego do karotenoidów (Tabela 12). Spadek tego wskaźnika wskazuje na stres oksydacyjny u roślin oraz na zwiększoną produkcję karotenoidów, których zadaniem jest obrona komórki przed RFT [132,165,234].

W omawianych badaniach obserwowano niewielki wzrost tego parametru jedynie po zastosowaniu najwyższych stężeń badanych związków.

Brak wpływu badanych ILs na wartości stosunku chlorofilu *a* do chlorofilu *b* oraz chlorofilu całkowitego do karotenoidów, w przypadku omawianych badań może wynikać z faktu, że obserwowano spadek zawartości wszystkich barwników asymilacyjnych, a zmiany zachodzące zarówno dla chlorofilu *a*, chlorofilu *b* i karotenoidów były procentowo podobne.

Tabela 11. Stosunek chlorofilu a/chlorofil b w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., n = 3). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Stężenie ILs [mg·kg ⁻¹ s.m. gleby]	7. dzień	14. dzień	21. dzień	7. dzień	14. dzień	21. dzień
[TEA][CI]			[EMIM][CI]			
0 (Kontrola)	3,715 \pm 0,017 ^{fg}	3,841 \pm 0,007 ^{cde}	3,838 \pm 0,065 ^{cdef}	4,087 \pm 0,054 ^{abcde}	3,934 \pm 0,058 ^{defg}	3,865 \pm 0,043 ^{fgh}
1	3,836 \pm 0,038 ^{cdef}	3,867 \pm 0,058 ^{cde}	3,902 \pm 0,038 ^{bcd}	4,002 \pm 0,052 ^{cdef}	3,937 \pm 0,036 ^{defg}	3,731 \pm 0,021 ^{gh}
10	3,759 \pm 0,039 ^{efg}	4,008 \pm 0,015 ^{ab}	3,956 \pm 0,048 ^{bc}	4,014 \pm 0,053 ^{cdef}	3,968 \pm 0,028 ^{def}	3,890 \pm 0,031 ^{efgh}
100	3,891 \pm 0,031 ^{bcd}	4,096 \pm 0,031 ^a	3,808 \pm 0,054 ^{cde}	4,031 \pm 0,049 ^{bcdef}	3,956 \pm 0,038 ^{def}	3,721 \pm 0,028 ^h
400	3,641 \pm 0,012 ^{gh}	3,891 \pm 0,031 ^{bcd}	3,884 \pm 0,016 ^{bcd}	4,003 \pm 0,044 ^{cdef}	4,277 \pm 0,068 ^a	3,930 \pm 0,026 ^{efgh}
700	3,660 \pm 0,004 ^{gh}	3,790 \pm 0,026 ^{def}	3,837 \pm 0,010 ^{cdef}	4,016 \pm 0,024 ^{cdef}	4,195 \pm 0,128 ^{abc}	4,231 \pm 0,171 ^{ab}
1000	3,569 \pm 0,012 ^h	3,954 \pm 0,031 ^{bc}	3,876 \pm 0,103 ^{cde}	4,134 \pm 0,065 ^{abcd}	4,249 \pm 0,117 ^a	4,189 \pm 0,051 ^{abc}
[TBA][CI]			[BMIM][CI]			
0 (Kontrola)	3,930 \pm 0,081 ^{hij}	4,096 \pm 0,023 ^{efgh}	3,918 \pm 0,023 ^{hijk}	4,339 \pm 0,048 ^{ab}	4,123 \pm 0,051 ^{cdefg}	4,093 \pm 0,057 ^{efg}
1	3,904 \pm 0,006 ^{ijk}	4,288 \pm 0,055 ^{bcd}	4,136 \pm 0,002 ^{defg}	4,267 \pm 0,018 ^{abcd}	4,022 \pm 0,092 ^g	4,153 \pm 0,042 ^{cdefg}
10	3,842 \pm 0,026 ^{ijk}	4,275 \pm 0,124 ^{cde}	4,148 \pm 0,050 ^{defg}	4,383 \pm 0,037 ^a	4,105 \pm 0,020 ^{defg}	4,229 \pm 0,023 ^{abcde}
100	3,976 \pm 0,033 ^{ghi}	4,100 \pm 0,105 ^{defgh}	3,964 \pm 0,048 ^{ghi}	4,365 \pm 0,010 ^{ab}	4,144 \pm 0,070 ^{cdefg}	4,125 \pm 0,027 ^{cdefg}
400	3,822 \pm 0,030 ^{ijk}	4,185 \pm 0,032 ^{cdef}	4,008 \pm 0,087 ^{fghi}	4,208 \pm 0,020 ^{bcdef}	4,037 \pm 0,033 ^g	4,050 \pm 0,022 ^{fg}
700	3,756 \pm 0,029 ^{jk}	4,286 \pm 0,062 ^{bcd}	4,504 \pm 0,069 ^a	4,283 \pm 0,007 ^{abc}	4,216 \pm 0,145 ^{bcde}	4,214 \pm 0,035 ^{bcde}
1000	3,739 \pm 0,038 ^k	4,370 \pm 0,029 ^{abc}	4,475 \pm 0,114 ^{ab}	4,230 \pm 0,042 ^{abcde}	4,156 \pm 0,047 ^{cdefg}	4,220 \pm 0,053 ^{abcde}
[TOA][CI]			[OMIM][CI]			
0 (Kontrola)	3,831 \pm 0,043 ^{defg}	3,746 \pm 0,044 ^{fgh}	3,971 \pm 0,040 ^{bcd}	3,684 \pm 0,053 ^j	3,993 \pm 0,035 ^{efgh}	4,423 \pm 0,031 ^{bc}
1	3,877 \pm 0,054 ^{cdef}	3,653 \pm 0,007 ^{ghi}	4,004 \pm 0,181 ^{bcd}	3,870 \pm 0,021 ^{hij}	4,117 \pm 0,027 ^{efg}	4,144 \pm 0,014 ^{efg}
10	4,001 \pm 0,026 ^{bcd}	3,633 \pm 0,021 ^{hi}	3,975 \pm 0,018 ^{bcd}	3,718 \pm 0,041 ^{ij}	3,923 \pm 0,012 ^{ghi}	4,369 \pm 0,049 ^{bc}
100	3,942 \pm 0,076 ^{cde}	3,791 \pm 0,020 ^{efgh}	4,129 \pm 0,016 ^{ab}	3,838 \pm 0,037 ^{hij}	4,174 \pm 0,184 ^{def}	4,640 \pm 0,035 ^b
400	4,021 \pm 0,004 ^{bc}	4,292 \pm 0,091 ^a	3,907 \pm 0,048 ^{cdef}	3,862 \pm 0,017 ^{hij}	3,975 \pm 0,026 ^{fgh}	4,995 \pm 0,017 ^a
700	3,909 \pm 0,034 ^{cdef}	3,534 \pm 0,015 ^{ij}	3,910 \pm 0,030 ^{cdef}	3,729 \pm 0,015 ^{ij}	4,211 \pm 0,057 ^{cde}	4,903 \pm 0,218 ^a
1000	3,947 \pm 0,015 ^{cde}	3,424 \pm 0,046 ⁱ	3,830 \pm 0,071 ^{defg}	3,741 \pm 0,044 ^{ij}	4,060 \pm 0,058 ^{efgh}	4,963 \pm 0,068 ^a

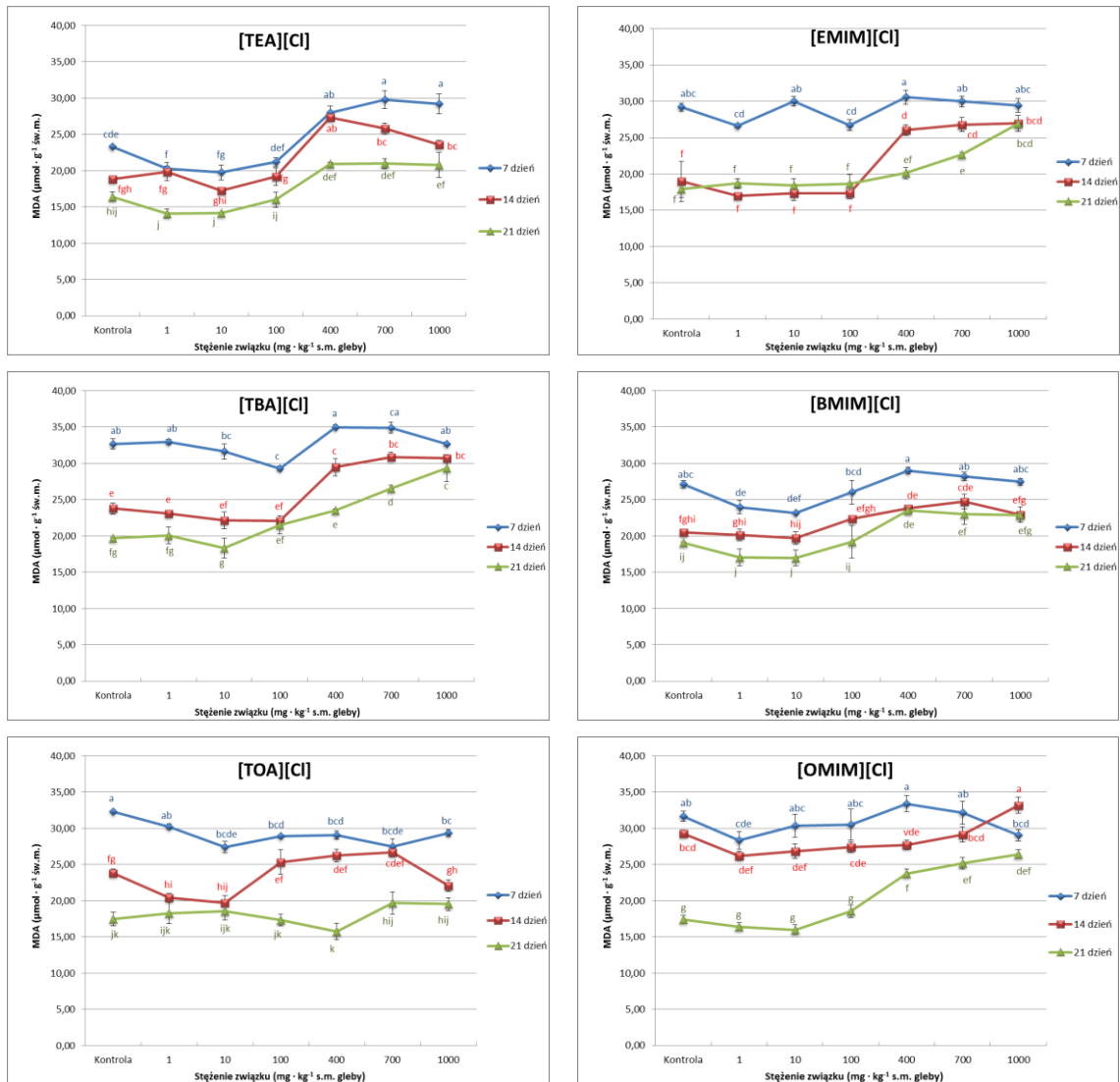
Tabela 12. Stosunek chlorofilu całkowitego do karotenoidów w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Stężenie ILs [mg·kg ⁻¹ s.m. gleby]	7. dzień	14. dzień	21. dzień	7. dzień	14. dzień	21. dzień
[TEA][CI]			[EMIM][CI]			
0 (Kontrola)	5,361 \pm 0,030 ^g	4,978 \pm 0,013 ^m	5,180 \pm 0,034 ^{ij}	5,734 \pm 0,045 ^d	4,788 \pm 0,007 ^{hi}	4,940 \pm 0,025 ^g
1	5,368 \pm 0,011 ^{fg}	5,088 \pm 0,024 ^{kl}	5,146 \pm 0,030 ^{jk}	5,837 \pm 0,030 ^{cd}	4,779 \pm 0,032 ^{hi}	4,937 \pm 0,021 ^g
10	5,315 \pm 0,013 ^{gh}	4,980 \pm 0,044 ^m	5,252 \pm 0,050 ^{hi}	5,850 \pm 0,020 ^c	4,859 \pm 0,021 ^{gh}	4,773 \pm 0,013 ^{hi}
100	5,282 \pm 0,013 ^{gh}	5,019 \pm 0,014 ^{lm}	5,280 \pm 0,045 ^{gh}	6,058 \pm 0,038 ^b	4,626 \pm 0,021 ^k	4,921 \pm 0,053 ^g
400	5,929 \pm 0,016 ^a	5,509 \pm 0,019 ^{de}	5,326 \pm 0,029 ^{gh}	6,369 \pm 0,051 ^a	5,111 \pm 0,036 ^f	4,640 \pm 0,004 ^{jk}
700	6,009 \pm 0,025 ^a	5,596 \pm 0,040 ^{cd}	5,458 \pm 0,017 ^e	6,416 \pm 0,036 ^a	5,515 \pm 0,025 ^e	4,748 \pm 0,010 ⁱ
1000	5,787 \pm 0,021 ^b	5,454 \pm 0,023 ^{ef}	5,683 \pm 0,047 ^c	6,460 \pm 0,021 ^a	5,447 \pm 0,069 ^e	4,739 \pm 0,050 ^{ij}
[TBA][CI]			[BMIM][CI]			
0 (Kontrola)	5,286 \pm 0,106 ^{ef}	5,091 \pm 0,032 ^{gh}	5,101 \pm 0,030 ^{gh}	4,848 \pm 0,018 ^g	5,029 \pm 0,009 ^{de}	4,849 \pm 0,035 ^g
1	5,499 \pm 0,024 ^{cd}	5,050 \pm 0,024 ^{gh}	4,810 \pm 0,020 ⁱ	4,890 \pm 0,012 ^{efg}	4,895 \pm 0,042 ^{efg}	5,242 \pm 0,018 ^{bc}
10	5,422 \pm 0,010 ^d	5,157 \pm 0,032 ^{fg}	4,758 \pm 0,034 ^{ij}	4,854 \pm 0,010 ^g	4,855 \pm 0,024 ^g	5,010 \pm 0,129 ^{def}
100	5,420 \pm 0,009 ^{de}	4,972 \pm 0,055 ^h	4,638 \pm 0,065 ^j	4,762 \pm 0,003 ^g	4,806 \pm 0,010 ^g	5,049 \pm 0,143 ^d
400	5,839 \pm 0,011 ^b	5,505 \pm 0,024 ^{cd}	5,035 \pm 0,021 ^{gh}	5,201 \pm 0,011 ^{bc}	5,265 \pm 0,009 ^{bc}	5,121 \pm 0,047 ^{cd}
700	6,130 \pm 0,056 ^a	5,628 \pm 0,037 ^c	4,700 \pm 0,064 ^{ij}	5,316 \pm 0,005 ^{ab}	5,153 \pm 0,040 ^{cd}	4,821 \pm 0,032 ^g
1000	6,060 \pm 0,048 ^a	5,483 \pm 0,042 ^d	4,784 \pm 0,034 ⁱ	5,459 \pm 0,027 ^a	5,050 \pm 0,027 ^d	4,871 \pm 0,007 ^{fg}
[TOA][CI]			[OMIM][CI]			
0 (Kontrola)	4,319 \pm 0,005 ^e	5,315 \pm 0,034 ^b	4,765 \pm 0,034 ^d	5,730 \pm 0,072 ^{cd}	5,111 \pm 0,011 ^{fg}	4,596 \pm 0,031 ⁱ
1	4,360 \pm 0,016 ^e	5,291 \pm 0,016 ^b	4,781 \pm 0,254 ^d	5,489 \pm 0,017 ^{de}	5,225 \pm 0,028 ^{ef}	4,888 \pm 0,252 ^{gh}
10	4,312 \pm 0,38 ^e	5,270 \pm 0,002 ^b	4,793 \pm 0,025 ^d	5,532 \pm 0,059 ^d	5,161 \pm 0,015 ^f	4,600 \pm 0,015 ⁱ
100	4,400 \pm 0,013 ^e	5,250 \pm 0,008 ^b	4,828 \pm 0,010 ^d	5,464 \pm 0,022 ^{de}	5,180 \pm 0,155 ^f	4,585 \pm 0,030 ⁱ
400	4,408 \pm 0,003 ^e	5,363 \pm 0,012 ^b	4,883 \pm 0,018 ^c	6,021 \pm 0,007 ^b	5,537 \pm 0,034 ^d	4,477 \pm 0,005 ⁱ
700	4,379 \pm 0,025 ^e	5,675 \pm 0,030 ^a	5,036 \pm 0,034 ^c	6,318 \pm 0,039 ^a	5,626 \pm 0,037 ^{cd}	4,720 \pm 0,212 ^{hi}
1000	4,378 \pm 0,014 ^e	5,590 \pm 0,002 ^a	5,060 \pm 0,061 ^c	5,889 \pm 0,039 ^{bc}	5,809 \pm 0,061 ^{bc}	4,586 \pm 0,016 ⁱ

2.4. Oddziaływanie badanych cieczy jonowych na zawartość podstawowych biomarkerów stresu oksydacyjnego w jęczmieniu jarym

2.4.1. Zmiany zawartości dialdehydu malonowego

Peroksydacja lipidów to wolnorodnikowy proces utleniania lipidów, a głównie nienasyconych kwasów tłuszczowych, w wyniku którego powstają nadtlenki tych związków. Końcowymi produktami peroksydacji lipidów są m.in. aldehydy i hydroksyaldehydy tj. dialdehyd malonowy (MDA) czy *trans*-4-hydroksynonenal (4-HNE). Produkty te mogą zmieniać właściwości fizyczne błon komórkowych prowadząc do zaburzenia ich integralności, a co za tym idzie zniszczenia funkcji ochronnej komórki. Następuje również rozpad organelli, utlenianie i zaburzenia w strukturze białek, DNA i RNA. Szybkość utleniania lipidów w komórkach uzależniona jest od czynników fizycznych, takich jak temperatura, światło, dostępność tlenu oraz wody, jak również od czynników, takich jak np. obecność innych składników nie lipidowych czy metali ciężkich. W celu określenia stopnia peroksydacji lipidów w roślinach, określa się zawartość nadtlenków lipidów (LOOH) lub lotnego dialdehydu malonowego (MDA). Wzrost zawartości MDA w komórkach jest wskaźnikiem stresu oksydacyjnego u roślin i zaburzeń w działaniu obrony antyoksydacyjnej, co świadczy o uszkodzeniu komórek [96,129,136,238,239]. W związku z powyższym, w niniejszej pracy dokonano oceny zawartości dialdehydu malonowego w siewkach jęczmienia jarego rosnącego na glebie z dodatkiem badanych ILs (Rys. 23).



Rys. 23. Wpływ ILs na zawartość dialdehydu malonowego ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ św.m.}$) w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

W wyniku przeprowadzonych badań zaobserwowano niewielkie zmiany zawartości MDA w siewkach jęczmienia jarego. W 7. dniu od wysiania nasion do gleby początkowy spadek, a następnie wzrost zawartości MDA w stosunku do roślin kontrolnych, zaobserwowano jedynie po zastosowaniu [TEA][Cl] w stężeniach 400-1000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s.m. gleby}$. Wzrost zawartości MDA w drugim i trzecim terminie badań obserwowano natomiast po zastosowaniu stężeń 400-1000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s.m. gleby}$, w przypadku roślin rosnących na glebie zawierającej [TBA][Cl], [EMIM][Cl] i [BMIM][Cl]. W przypadku [OMIM][Cl] wzrost zawartości MDA obserwujemy jedynie w 14. dniu od wysiania nasion do gleby po zastosowaniu najwyższego stężenia badanej cieczy jonowej oraz w 21. dniu prowadzenia badań po zastosowaniu stężeń powyżej 400 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s.m. gleby}$. W przypadku zastosowania [TOA][Cl], w 7. dniu od wysiania nasion obserwowano spadek zawartości MDA, w 14. dniu prowadzenia badań

przy zastosowaniu niższych stężeń związku, również stwierdzono spadek poziomu MDA w stosunku do roślin kontrolnych, a następnie wzrost po zastosowaniu stężeń 100-700 mg·kg⁻¹ s.m. gleby do poziomu zbliżonego do obiektów kontrolnych W 21. dniu prowadzenia badań nie obserwowano większych zmian zawartości MDA w siewkach jęczmienia jarego, rosnącego na glebie zawierającej [TOA][Cl]. W przypadku wszystkich zastosowanych ILS obserwowano spadek akumulacji MDA w siewkach jęczmienia jarego w kolejnych terminach prowadzenia badań. Obserwowane zmiany zawartości MDA w siewkach jęczmienia jarego rosnących na glebie z dodatkiem ILS mogą świadczyć o fakcie, że system antyoksydacyjny w roślinach działa prawidłowo i jego działanie ukierunkowane jest na zapobieganie negatywnemu oddziaływaniu ILS na rośliny. Spadek zawartości MDA w czasie trwania badań, jak donoszą Moieni-Korbekandi i wsp. [240] może również świadczyć o zwiększeniu się tolerancji roślin na czynniki stresowe.

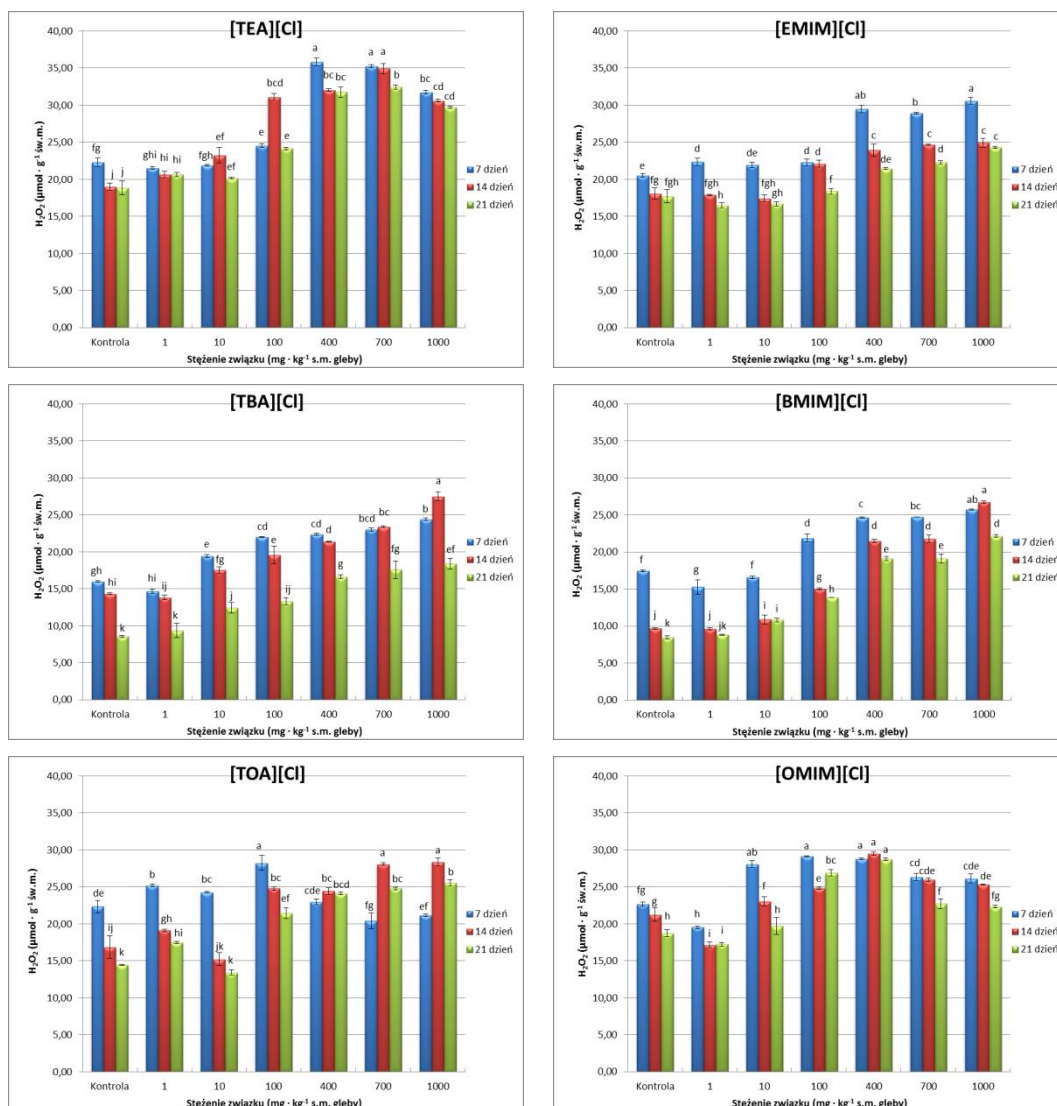
W dostępnej literaturze naukowej dominuje pogląd, że kontakt roślin z różnego typu czynnikami stresowymi m.in. z ILS powoduje wzrost zawartości MDA, który jest dodatnio skorelowany z zastosowanym stężeniem polutanta [97-99]. Liu i wsp. [96] wskazują ponadto, że poziom akumulacji MDA był większy w korzeniach, niż w liściach roślin narażonych na kontakt z ILS. Dostępne są również badania uzależniające poziom akumulacji MDA w roślinach mających kontakt z różnymi ksenobiotykami od cech gatunkowych roślin [92,233]. Autorzy Ci zaobserwowali, że te same czwartorzędowe sole amoniowe i ciecze jonowe powodują zmiany zawartości MDA w siewkach jęczmienia jarego, natomiast akumulacji tego aldehydu nie obserwowano w liściach rzodkiewki zwyczajnej. Rombel-Bryzek i Pisarek [239] w swoich badaniach również stwierdzili, że nie wszystkie czynniki stresowe prowadzą do wzrostu MDA. Autorzy badając wpływ suszy na wzrost i rozwój buraka cukrowego nie obserwowali zmian zawartości MDA w roślinach rosnących w takich warunkach, natomiast wzrost zawartości MDA w pędach buraka cukrowego obserwowany był przez nich wówczas, gdy rośliny te rosły w warunkach suszy były dodatkowo spryskiwane kwasami huminowymi.

2.4.2. Zmiany zawartości H₂O₂

Nadtlenek wodoru to jedna z najbardziej stabilnych cząsteczek zaliczanych do RFT. Ze względu na jego elektryczną obojętność może on dyfundować przez błony biologiczne, co zwiększa jego zasięg działania. H₂O₂ występuje w normalnych warunkach w każdej roślinie jest to bowiem bardzo ważna cząsteczka sygnałowa, która pomaga chronić roślinę m.in. przed atakami patogenów. Cząsteczka ta powstaje w wyniku wielu naturalnych procesów zachodzących w organizmie (np. w wyniku działania dysmutazy ponadtlenkowej), natomiast za jej usuwanie odpowiedzialne są enzymy – katalaza i peroksydazy. Uważa się też, że H₂O₂ pełni istotną rolę w tzw. procesie nabytej aklimatyzacji systemowej, czyli aklimatyzacji roślin do niekorzystnych warunków środowiskowych. Ponadto, np. podczas różnicowania się komórek, H₂O₂ zwiększa usieciowanie tworzących się polimerów zwiększając tym usztywnienie ściany komórkowej. Nadtlenek ten pełni również istotną rolę w procesie kiełkowania nasion.

H_2O_2 może reagować z grupami imidazoliowymi, tiolowymi, metionylowymi, fenolowymi, indolowymi czy tioestrowymi. Toksyczne oddziaływanie H_2O_2 na roślinę wynika z utleniania przez ten związek grup tiolowych oraz utleniania jonów metali przejściowych, czego efektem jest m.in. powstawanie wysoce reaktywnego rodnika hydroksylowego [134-136,140,241].

Ze względu na istotność tej cząsteczki dla metabolizmu roślinnego, w prezentowanych badaniach dokonano oceny zawartości tej RFT w siewkach jęczmienia jarego rosnących na glebie z dodatkiem amoniowych i imidazoliowych ILS (Rys. 24).



Rys. 24. Wpływ ILS na zawartość H_2O_2 ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ s.w.m.) w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILS (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILS nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

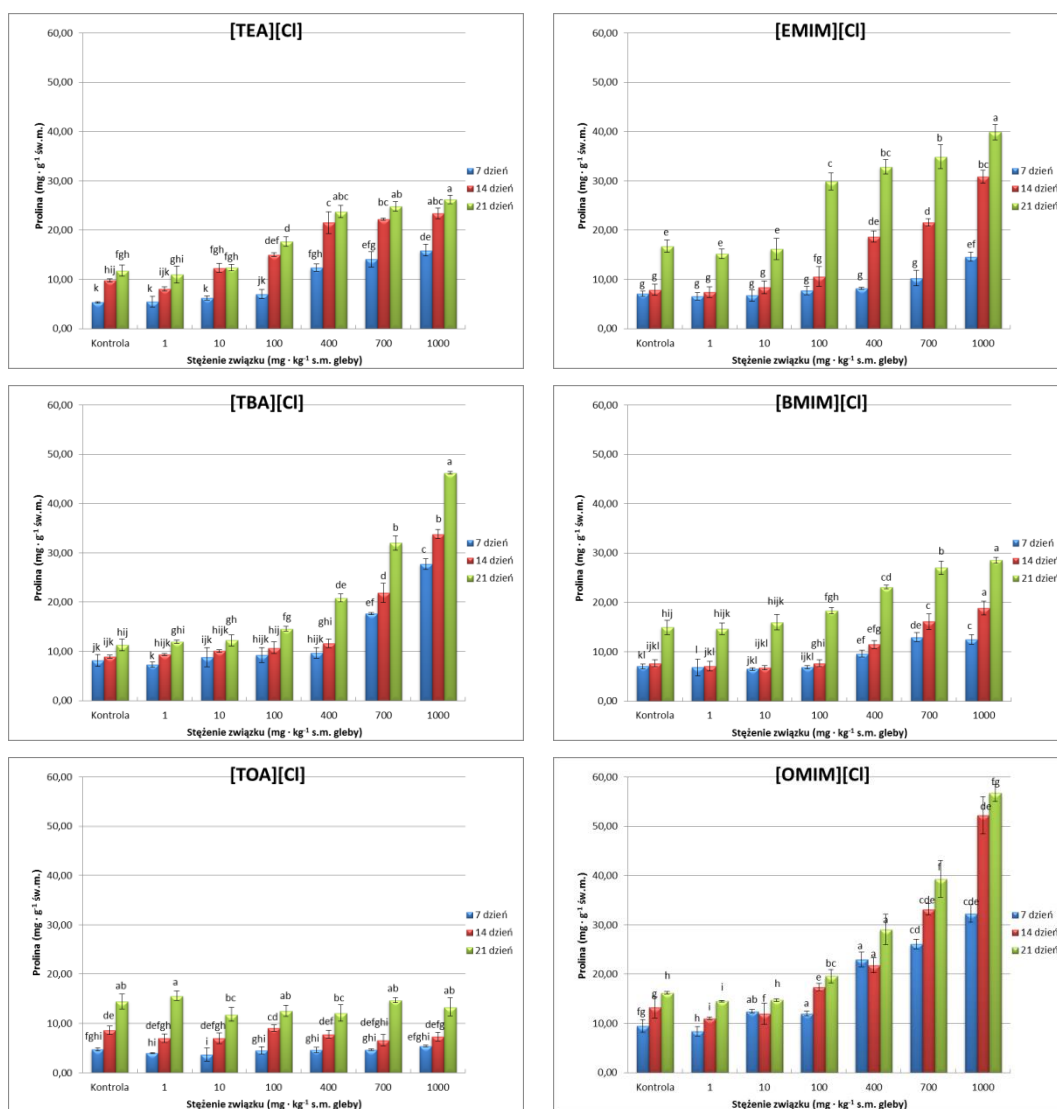
W wyniku przeprowadzonych badań zaobserwowano z reguły wzrost zawartości nadtlenu wodoru wraz ze wzrostem stężenia badanych ILS w glebie. W przypadku

zastosowania [TEA][Cl] oraz [OMIM][Cl] obserwowano początkowo niewielki spadek zawartości H_2O_2 w siewkach jęczmienia przy zastosowaniu najniższych stężeń, następnie wzrost zawartości tego nadtlenu i ponownie niewielki spadek, jednak do poziomu i tak wyższego, niż stwierdzony w przypadku roślin kontrolnych. Po zastosowaniu [TOA][Cl], w pierwszym terminie badań zmiany zawartości H_2O_2 również nie były liniowo skorelowane ze wzrostem stężenia związku. Zaobserwowano ponadto, że zawartość H_2O_2 w siewkach zarówno kontrolnych, jak i tych rosnących na glebie zanieczyszczonej cieczami jonowymi obniżała się z upływem czasu.

Uzyskane wyniki badań znajdują potwierdzenie w dostępnej literaturze. Cvjetko Bubalo i wsp. [97] dla jęczmienia, Zhang i wsp. [234] dla rzęsy wodnej oraz Biczak i wsp. [92] dla rzodkiewki zwyczajnej zaobserwowali wzrost zawartości H_2O_2 w roślinach mających kontakt z cieczami jonowymi, który był także dodatnio skorelowany ze stężeniem badanych związków. Pawłowska i wsp. [101] badając wpływ ILs na siewki pszenicy oraz Biczak i wsp. [242] dla jęczmienia jarego, zaobserwowali natomiast spadek zawartości tego nadtlenu wraz ze wzrostem stężenia badanych ILs w glebie. Różnice w kierunku zmian zawartości nadtlenu wodoru zależne są zatem od gatunku rośliny na którą dane związki działają, ale również od rodzaju związku oraz zastosowanego stężenia.

2.4.3. Zmiany zawartości wolnej proliny

Reaktywne formy tlenu powodują stres oksydacyjny u roślin, a to z kolei prowadzi do nadprodukcji RFT. W celu ochrony komórek przed RFT poza enzymami antyoksydacyjnymi roślina wytwarza kompatybilne substancje rozpuszczone, których zadaniem jest przerwanie autokatalitycznego procesu wytwarzania nadmiernych ilości RFT. Prolina to aminokwas, którego akumulacja w roślinach poddanych różnym czynnikom stresowym chroni komórki roślinne przed uszkodzeniami przez RFT. Stanowi ona nie tylko uboczny skutek stresu, ale jest to związek zaangażowany w obronę komórki przed stresem. Prolina reaguje z tlenem singletowym oraz rodnikiem hydroksylowym powodując wygaszenie ich reaktywności, gdyż w wyniku reakcji powstają mniej reaktywne produkty [140,243]. Ze względu na istotny udział proliny w ochronie roślin przed stresem oksydacyjnym i RFT, w niniejszej pracy dokonano również oceny wpływu ILs na zawartość tego aminokwasu w siewkach jęczmienia jarego (Rys. 25).



Rys. 22. Wpływ ILs na zawartość wolnej proliny ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ s.w.m.) w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

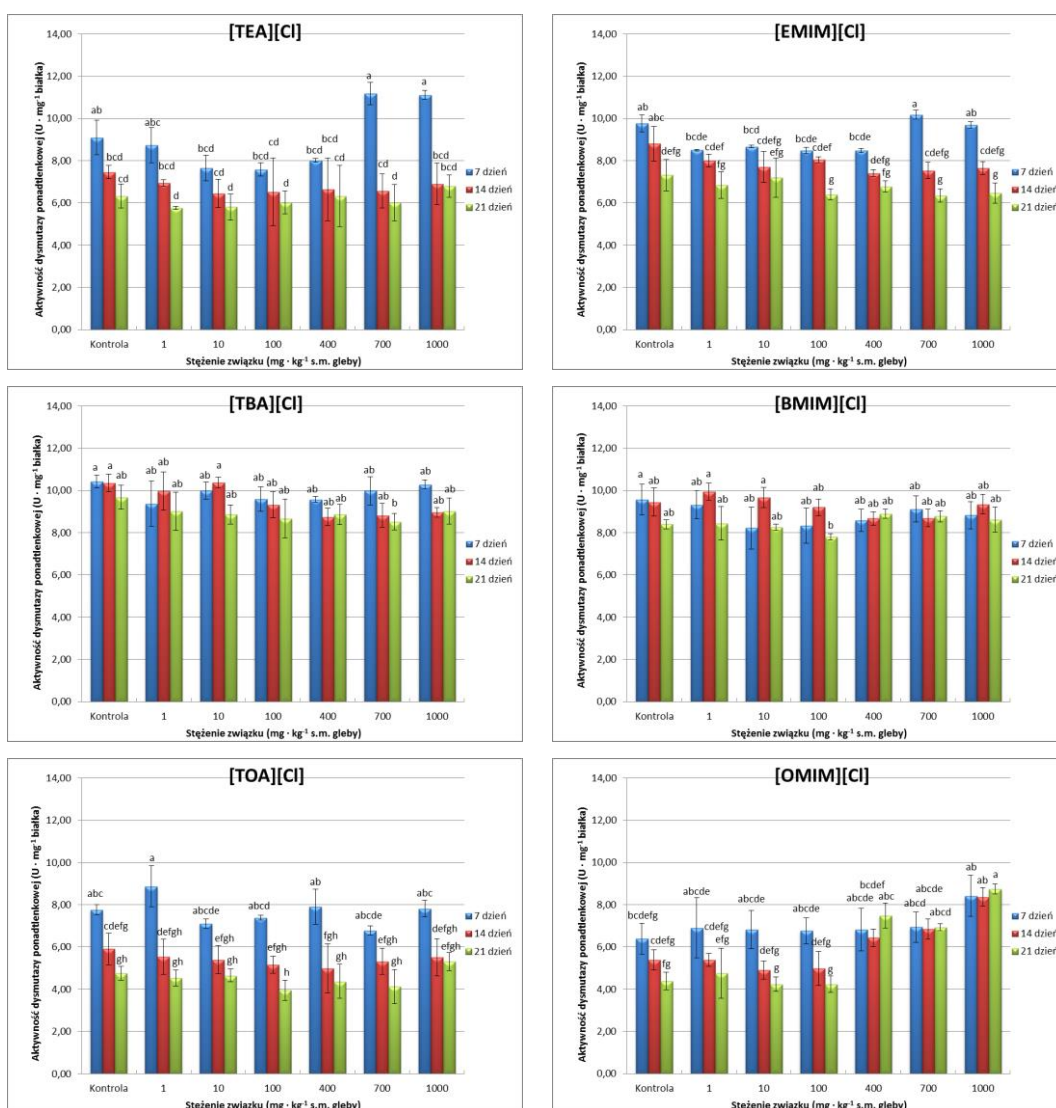
W wyniku przeprowadzonych badań zaobserwowano duży wzrost zawartości proliny w siewkach jęczmienia jarego rosnących na glebie z dodatkiem ILs, który był dodatnio skorelowany ze stężeniem badanych związków w glebie. Obserwowano również wzrost zawartości proliny w siewkach jęczmienia wraz z czasem prowadzenia badań. Jedynie w przypadku zastosowania [TOA][Cl] nie obserwowano wpływu tej IL na zawartość wolnej proliny. Uzyskane wyniki badań znajdują potwierdzenie w dostępnej literaturze. Liu i wsp. [98,244] oraz Pawłowska i wsp. [101] również zaobserwowali wzrost zawartości proliny, odpowiednio w roślinach bobu oraz siewkach pszenicy pod wpływem ILs, który był także dodatnio skorelowany ze wzrostem stężenia badanych związków. Anjaneyulu i wsp. [130] oraz Liu i wsp. [98] uzasadniają wzrost zawartości proliny tym, że reguluje ona potencjał osmotyczny komórek roślinnych, obniżony w warunkach stresu oksydacyjnego, co czyni ją ważnym biomarkerem

określającym wpływ związków chemicznych na rośliny. Sánchez-Rodríguez i wsp. [245] uważają jednak, że wzrost zawartości proliny jest jedynie objawem stresu oksydacyjnego w roślinach i nie ma znaczenia antyoksydacyjnego.

2.5. Wpływ badanych cieczy jonowych na zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych w siewkach jęczmienia jarego

2.5.1. Zmiany aktywności dysmutazy ponadtlenkowej

Pierwszą linię obrony przed RFT stanowią dysmutazy ponadtlenkowe (SOD), które katalizują reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenowego ($O_2^{\cdot-}$), w wyniku której powstaje H_2O_2 i O_2 . Eliminując $O_2^{\cdot-}$ enzym ten zapobiega peroksydacji lipidów [241,246]. W zawiązku z powyższym w niniejszych badaniach dokonano oceny aktywności SOD w roślinach mających kontakt z ILs (Rys. 26).



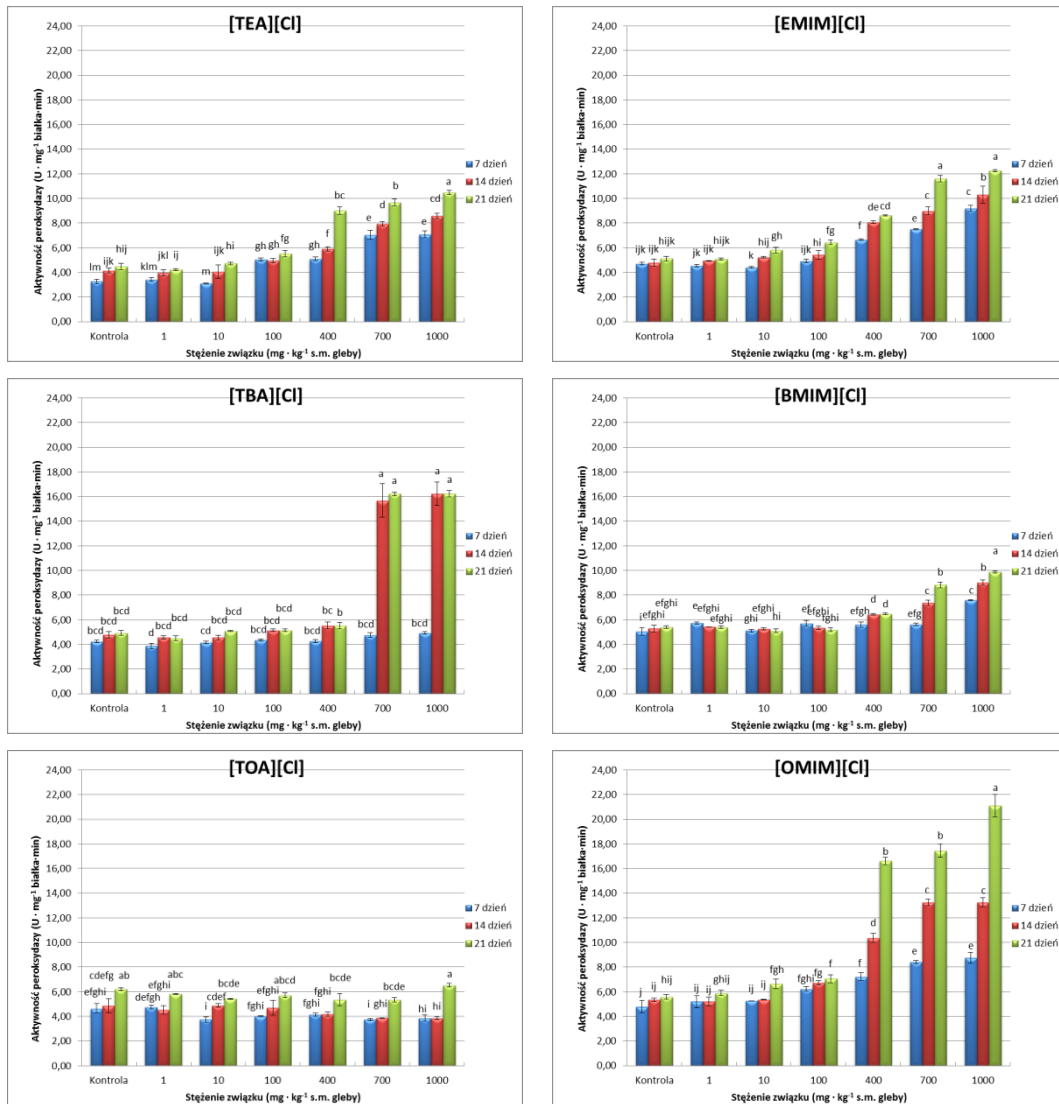
Rys. 26. Zmiany aktywności dysmutazy ponadtlenkowej ($U \cdot mg^{-1}$ białka) w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Uzyskane wyniki badań wskazują na brak większych zmian aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w siewkach jęczmienia jarego rosnącego na glebie zawierającej badane ciecze jonowe, w porównaniu do aktywności tego enzymu stwierdzonej u obiektów kontrolnych. Analizując zmiany aktywności SOD w kolejnych terminach badań, można jedynie zaobserwować niewielką tendencję spadkową aktywności tego enzymu, zwłaszcza w 21. dniu po wysianiu ziarna jęczmienia do gleby. Taki trend zmian aktywności SOD stwierdzono w przypadku większości związków zastosowanych w eksperymencie.

Podobne wyniki w swoich badaniach otrzymali również Liu i wsp. [43,244], Cvjetko Bubalo i wsp. [97] i Fan i wsp. [62], którzy nie obserwowali korelacji pomiędzy aktywnością SOD, a stężeniem zastosowanych ILs. Cytowani autorzy w swoich badaniach obserwowali początkowy wzrost aktywności tego enzymu, a następnie jej spadek. Liu i wsp. [95] zaobserwowali spadek aktywności SOD w korzeniach ryżu. Natomiast w siewkach ryżu zmiany te nie były już tak liniowo skorelowane ze stężeniem badanych związków. Autorzy Ci stwierdzili również największą aktywność SOD w chloroplastach, mniejszą w mitochondriach, natomiast najmniejszą w cytozolu. Różnice te związane są z aktywnością izoform SOD występujących w tych organelach i ich wrażliwością na H_2O_2 i HCN. Aktywność Cu,ZnSOD jest hamowana przez oba związki, FeSOD tylko przez H_2O_2 , natomiast MnSOD jest niewrażliwy na oba inhibitory [246]. Ponadto Fan i wsp. [62] wskazują, że zahamowanie aktywności SOD może być związane ze zbyt dużą ilością RFT. Stres oksydacyjny wywołany przez wysokie stężenie ILs, przekraczające potencjał przeciwutleniający glonów, może prowadzić do nieodwracalnych uszkodzeń. Do podobnych wniosków doszli również Zhang i wsp. [75], którzy wskazują, że nadmiar RFT może hamować aktywność SOD. Ponadto RFT mogą uszkadzać białko powodując utratę jego funkcji i aktywności enzymatycznej.

2.5.2. Zmiany aktywności peroksydazy

Nadmiar H_2O_2 powstający m.in. w wyniku działania dysmutazy ponadtlenkowej jest usuwany przez dwie grupy enzymów: katalazy i peroksydazy. W przeciwieństwie do katalaz peroksydazy są enzymami, które katalizują reakcje usuwania nadtlenu wodoru, do których przebiegu niezbędny jest donor elektronów w postaci związków fenolowych tj. pirogalol, benzydyna, gwajakol lub antyoksydantów tj. kwas askorbinowy [60,108]. W dostępnej literaturze [95,113,130,233] przeważa pogląd, że wzrost aktywności peroksydazy następuje zawsze, gdy pojawiają się czynniki stresowe i następuje nadprodukcja RFT w roślinach, dlatego też w niniejszej pracy również dokonano oceny zmian aktywności peroksydazy w siewkach jęczmienia jarego rosnącego na glebie z dodatkiem ILs (Rys. 27).



Rys. 27. Zmiany aktywności peroksydazy ($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ białka·min⁻¹) w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

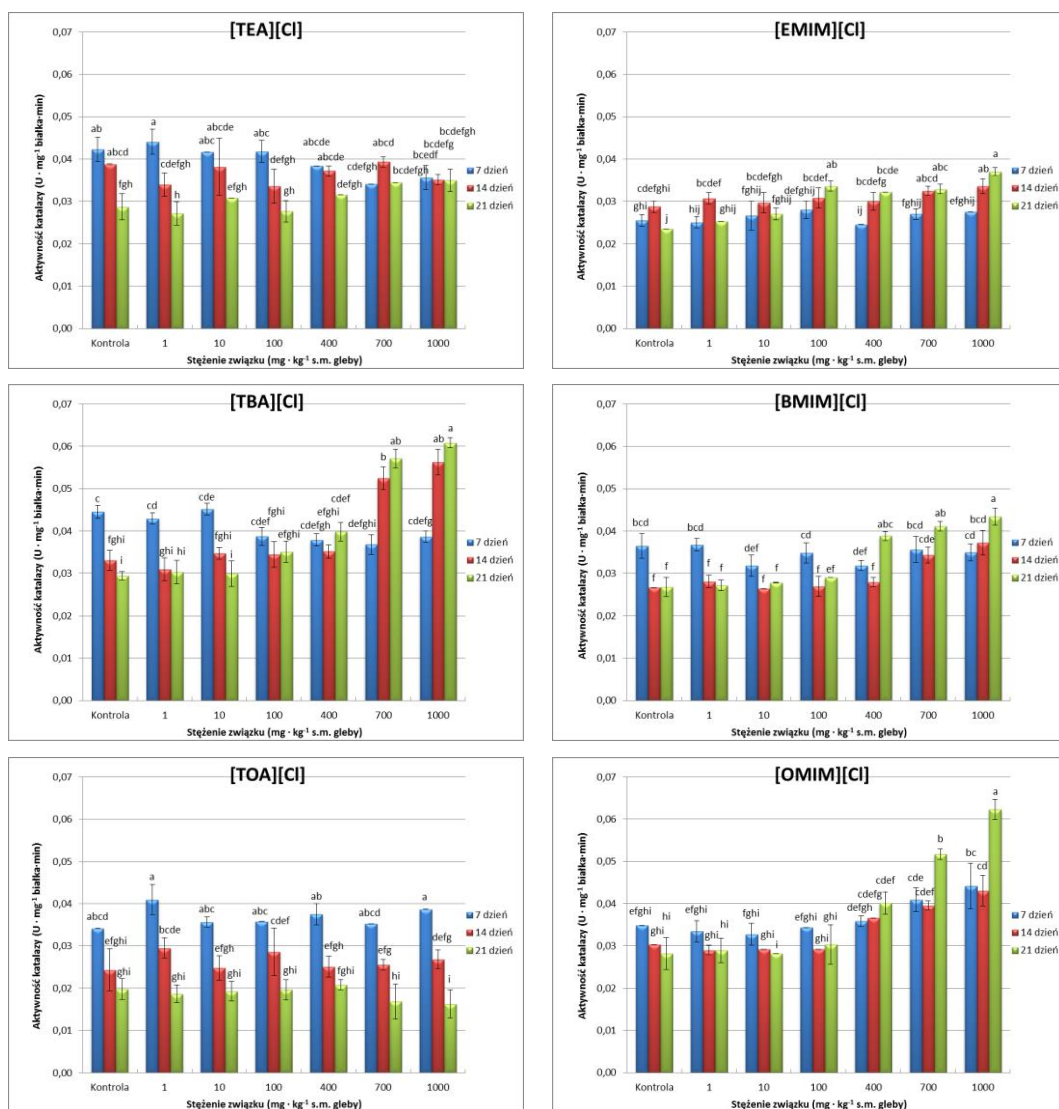
Analiza uzyskanych wyników wskazuje na wzrost aktywności peroksydazy (POD) w siewkach jęczmienia jarego rosnących na glebie z dodatkiem ILs. Jedynie zastosowanie [TOA][Cl], nawet w najwyższym stężeniu, nie powodowało wzrostu aktywności tego enzymu. W przypadku wszystkich pozostałych związków, po zastosowaniu niższych stężeń nie obserwowano większych zmian w aktywności POD, natomiast przy zastosowaniu wyższych stężeń związków (powyżej $400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. gleby) obserwowano wzrost aktywności POD. Ponadto w pierwszym terminie badań zmiany aktywności tego enzymu były niewielkie, albo w ogóle nie występowały, natomiast wraz z upływem czasu aktywność peroksydazy rosła. Największe zmiany aktywności peroksydazy obserwowano w 14. i 21. dniu badań po zastosowaniu [TBA][Cl] oraz [OMIM][Cl].

Uzyskane wyniki badań znalazły potwierdzenie w dostępnej literaturze. Cvjetko Bubalo i wsp. [97] badając wpływ ILs z różnymi anionami i różną długością łańcucha alkilowego w podstawniku również obserwowali, że wpływ ILs na aktywność peroksydazy był uzależniony od zastosowanego związku. Liu i wsp. [96,102], Biczak i wsp. [21] oraz Pawłowska i Biczak [228] także stwierdzili wzrost aktywności peroksydazy w siewkach ryżu, bobu, jęczmienia jarego oraz rzodkiewki zwyczajnej spowodowany kontaktem roślin z ILs. W badaniach tych, poziom aktywności POD uzależniony był od związku, który oddziaływał na rośliny oraz od zastosowanego stężenia. Liu i wsp. [98] również obserwowali wzrost aktywności POD w siewkach pszenicy pod wpływem heksafluorofosforanu 1-oktylo-3-metyloimidazoliowego, który był dodatkowo skorelowany z zastosowanym stężeniem związku oraz z czasem trwania eksperymentu. Kumar et al. [170] wskazuje, że wysoka aktywność peroksydazy sugeruje aktywne zaangażowanie tego enzymu w detoksykację H_2O_2 i zapobieganie tym samym niszczeniu błony lipidowej. Liu i wsp. [95] w swoich badaniach wskazują ponadto na różnicę w aktywności POD i kierunku zmian aktywności tego enzymu w zależności od organu rośliny. Badacze Ci oceniając wpływ chlorku 1-oktylo-3-metyloimidazoliowego na rozwój siewek ryżu zaobserwowali spadek aktywności peroksydazy w korzeniach badanych roślin, który był liniowo skorelowany ze wzrostem stężenia. Jednocześnie w siewkach ryżu (w chloroplastach i w mitochondrium) obserwowany był wzrost aktywności POD, także skorelowany dodatkowo ze wzrostem stężenia IL. Deng i wsp. [73] badając wpływ tetrafluoroboranów 1-butylo-3-metyloimidazoliowego i 1-oktylo-3-metyloimidazoliowego dla *Phaeodactylum tricornutum* oraz Zhang i wsp. [95] badając wpływ bromku 1-oktylo-3-metyloimidazoliowego na rzęsę drobną zaobserwowali, że aktywność peroksydazy rośnie tylko do pewnego stężenia badanych ILs, a następnie następuje spadek aktywności tego enzymu. Autorzy tłumaczą takie zachowanie enzymu faktem, iż w momencie, gdy poziom RFT przekracza możliwości usuwania ich przez POD następuje zahamowanie aktywności tego enzymu. Zbyt duży poziom RFT przekraczający możliwości detoksykacyjne enzymów antyoksydacyjnych może prowadzić do uszkodzenia komórek oraz struktury białek prowadząc do nieodwracalnych zmian, czego widocznym efektem jest zahamowanie wzrostu roślin, a nawet ich śmierć.

2.5.3. Zmiany aktywności katalazy

Katalazy, podobnie jak peroksydazy, to przedstawiciele oksydoreduktaz. Enzymy te są odpowiedzialne za detoksykację nadtlenu wodoru. W przeciwieństwie do innych enzymów nie wymagają one reduktora, ale mają stosunkowo niskie powinowactwo do H_2O_2 . W największych ilościach występują one w peroksysomach [247,248]. Katalaza jest enzymem charakteryzującym się wysoką efektywnością, w ciągu jednej minuty może rozłożyć około 6 mln cząsteczek H_2O_2 (stała szybkości tej reakcji = $1,7 \cdot 10^7 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) [249]. Enzym ten może wykazywać podwójną aktywność. Przy dużym stężeniu nadtlenu wodoru katalaza wykazuje głównie aktywność katalazową czyli rozkłada H_2O_2 do wody i tlenu. Przy małym stężeniu H_2O_2 katalaza wykazuje aktywność

peroksydazową, w wyniku której następuje utlenianie m.in. metanolu, etanolu, azotanów (III), mrówczanu, chinonów. Aktywność katalazy może być jednak hamowana przez wiele związków chemicznych [149]. Aktywność katalazy jest jednym z podstawowych wskaźników określanych w celu oceny stresu oksydacyjnego u roślin, dlatego też w niniejszym badaniu dokonano oceny aktywności katalazy w siewkach jęczmienia jarego rosnących na glebie zawierającej różne ILs (Rys. 28).



Rys. 28. Zmiany aktywności katalazy ($U \cdot mg^{-1} \text{białka} \cdot \text{min}^{-1}$) w siewkach jęczmienia jarego w 7., 14. i 21. dniu od wysiania nasion do gleby z dodatkiem ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych ILs nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że kierunek zmian aktywności katalazy nie jest jednoznaczny. Jedynie po zastosowaniu [OMIM][Cl] w pierwszym terminie badań obserwowano nieznaczny wzrost aktywności katalazy. W przypadku zastosowania [TEA][Cl] i [TBA][Cl] w pierwszym terminie badań zaobserwowano niewielki spadek aktywności katalazy. Zastosowanie pozostałych związków nie spowodowało

statystycznie istotnych zmian aktywności katalazy w pierwszym terminie badań. W drugim terminie badań wzrost aktywności katalazy obserwowano w przypadku wszystkich imidazoliowych ILS oraz soli amoniowej [TBA][Cl]. W 21. dniu od wysiania nasion wzrost aktywności katalazy obserwowano po zastosowaniu wszystkich ILS, z wyjątkiem [TOA][Cl], dla tego związku stwierdzono, że aktywność katalazy obniżała się sukcesywnie w każdym terminie badań. W ostatnim terminie badań, największy wzrost aktywności katalazy stwierdzono w siewkach jęczmienia jarego, rosnącego na glebie z dodatkiem [TBA][Cl] i [OMIM][Cl]. Jedynie na obiektach, dla których oznaczono istotny wzrost aktywności CAT, można zaobserwować jednocześnie korelację wzrostu aktywności tego enzymu, wraz z zastosowanym stężeniem związku. Obserwując zmiany aktywności katalazy w roślinach kontrolnych i roślinach uprawianych przy najniższych stężeniach badanych ILS, można stwierdzić, że aktywność tego enzymu maleje wraz z czasem prowadzenia badań.

Liu i wsp. [95,96,102,248], Pawłowska i wsp. [192] i Cvjetko Bubalo i wsp. [97] również donoszą o braku jednoznacznego kierunku zmian aktywności katalazy w roślinach pod wpływem ILS. Liu i wsp. [244] badając wpływ bromku 1-decylopyridyniowego na algi *Scenedesmus obliquus* zaobserwowali wręcz liniowy wzrost aktywności tego enzymu do stężenia 0,03 mg/l, a następnie spadek jego aktywności do poziomu zbliżonego do aktywności CAT w obiektach kontrolnych. Liu i wsp. [95] badając wpływ chlorku 1-octylo-3-metyloimidazoliowego na siewki ryżu, zaobserwowali różnice w aktywności katalazy w wyniku kontaktu z ILS, które uzależnione były od organu rośliny, w którym określono aktywność enzymów. Autorzy zaobserwowali wręcz liniowy spadek aktywności katalazy w korzeniach badanych roślin, natomiast w częściach nadziemnych roślin stwierdzono wzrost aktywności tego enzymu, jednak brak było liniowej korelacji pomiędzy aktywnością katalazy, a stężeniem związku. Cvjetko Bubalo i wsp. [97] w swoich badaniach pokazali, że wpływ ILS na aktywność katalazy zależy głównie od zastosowanego związku. W przypadku wszystkich zastosowanych ILS autorzy obserwowali wzrost aktywności katalazy, jednak jedynie dla octanu 1-n-butylo-3-metyloimidazoliowego ([C4mim][CH3CO2]) oraz bromku 1-n-heptylo-3-metyloimidazoliowego ([C7mim][Br]) obserwowano liniową korelację pomiędzy aktywnością katalazy, a zastosowanym stężeniem związku. W przypadku bromków 1-n-butylo-3-metyloimidazoliowego ([C4mim][Br]) oraz 1-n-decylo-3-metyloimidazoliowego ([C10mim][Br]) zaobserwowano początkowy wzrost aktywności tego enzymu, a następnie spadek, jednak nawet pomimo spadku, aktywność katalazy była i tak większa, niż w obiektach kontrolnych. Jedynie po zastosowaniu tetrafluoroboranu 1-butylo-3-metyloimidazoliowego ([C4mim][BF4]) zmiany aktywności katalazy były niewielkie, w odniesieniu do obserwowanych dla pozostałych związków. Ścibor i Czeczot [249] wskazują, że różne kierunki zmiany aktywności CAT mogą wynikać ze struktury tego enzymu. Do centrum aktywnego katalazy prowadzi wąski hydrofobowy kanał, do którego mogą wejść tylko cząsteczki takie jak H₂O₂. Inaktywacja katalazy następuje po przyłączeniu substancji chemicznych do centrum aktywnego enzymu. Duże cząstki niektórych ILS nie są w stanie przeniknąć przez ten kanał, dlatego też katalaza jest uważana za enzym dość odporny na ten typ soli [250]. Chen i wsp. [8]

wskazują, że aktywność CAT początkowo wzrasta w roślinach mających kontakt z ILs, ponieważ roślina broni się w ten sposób przed nadmierną produkcją H₂O₂, a gdy ilość H₂O₂ jest zbyt wysoka, zdolność oczyszczania katalazy jest przekroczona i aktywność tego enzymu spada.

2.6. Interakcje pomiędzy badanymi parametrami

W celu określenia istotności wpływu poszczególnych parametrów na oznaczane wskaźniki fitotoksyczności oraz występowania stresu oksydacyjnego u roślin, dokonano analizy statystycznej uzyskanych wyników eksperymentalnych. Na podstawie analizy miary wpływu η^2 wyznaczonej z użyciem analizy wariancji, określono procentowy udział wszystkich czynników wpływających na zmiany badanych parametrów fitotoksyczności i stresu oksydacyjnego w siewkach jęczmienia jarego rosnących na glebie zawierającej ILs. Procentowy udział wszystkich czynników wpływających na zmiany badanych parametrów fitotoksyczności i stresu oksydacyjnego u jęczmienia jarego, pod wpływem badanych ILs przedstawiono w tabelach 13 i 14.

Tabela 13. Procentowy udział wszystkich czynników wpływających na zmiany badanych parametrów fitotoksyczności i stresu oksydacyjnego u jęczmienia jarego, pod wpływem amoniowych ILs.

Parametr	Termin (A)	Stężenie ILs (B)	Interakcja A × B	Błąd
[TEA][CI]				
POD	14,488	78,414	6,308	0,790
CAT	51,942	2,491 n.i.	29,219	16,348
SOD	57,132	12,246	15,194	15,429
MDA	37,805	56,059	3,744	2,393
H ₂ O ₂	2,879	91,039	5,638	0,443
Prolina	30,749	64,850	2,701	1,701
Chlorofil <i>a</i>	11,768	76,766	11,068	0,398
Chlorofil <i>b</i>	13,154	72,280	14,002	0,563
Chlorofil <i>a+b</i>	11,817	76,143	11,646	0,395
Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i>	46,470	27,497	19,379	6,654
Car	11,894	80,156	7,668	0,282
Chlorofil <i>a+b</i> /Car	24,585	61,340	12,735	1,735
Sucha masa	1,379	96,120	1,608	0,894
Plon świeżej masy	23,546	70,386	5,339	0,730
[TBA][CI]				
POD	15,782	59,038	24,649	0,531
CAT	0,163 n.i.	49,765	46,524	3,548
SOD	24,712	21,583	16,148 n.i.	37,557
MDA	61,131	28,368	8,795	1,706
H ₂ O ₂	35,708	60,524	2,945	0,823
Prolina	12,574	81,346	5,378	0,702
Chlorofil <i>a</i>	1,766	96,776	1,297	0,161
Chlorofil <i>b</i>	2,926	94,453	2,300	0,322
Chlorofil <i>a+b</i>	1,803	96,580	1,445	0,172
Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i>	52,971	12,452	29,731	4,845
Car	0,770	97,465	1,575	0,190
Chlorofil <i>a+b</i> /Car	64,853	19,231	15,186	0,730
Sucha masa	2,394	96,803	0,413	0,390
Plon świeżej masy	30,145	61,717	7,669	0,469
[TOA][CI]				
POD	68,767	10,430	11,639	9,164
CAT	86,701	2,363 n.i.	3,125 n.i.	7,810
SOD	78,461	4,984	4,489 n.i.	12,065
MDA	83,236	3,055	11,363	2,346
H ₂ O ₂	9,839	46,869	42,048	1,244
Prolina	83,745	4,255	7,545	4,455
Chlorofil <i>a</i>	70,168	13,731	11,052	5,048
Chlorofil <i>b</i>	83,612	5,218	9,676	1,495
Chlorofil <i>a+b</i>	78,010	12,966	7,650	1,374
Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i>	28,155	27,375	38,900	5,570
Car	82,693	10,872	5,478	0,957
Chlorofil <i>a+b</i> /Car	91,838	4,710	2,054	1,398
Sucha masa	37,466	20,995	20,184	21,955
Plon świeżej masy	96,751	1,325	0,824	1,100

n.i. – nieistotne statystycznie na poziomie $p < 0,05$

Tabela 14. Procentowy udział wszystkich czynników wpływających na zmiany badanych parametrów fitotoksyczności i stresu oksydacyjnego u jęczmienia jarego, pod wpływem imidazoliowych ILs.

Parametr	Termin (A)	Stężenie ILs (B)	Interakcja A × B	Błąd
[EMIM][Cl]				
POD	10,086	84,413	4,854	0,674
CAT	28,625	36,067	24,006	11,302
SOD	70,090	8,060	11,793	10,057
MDA	56,049	28,383	12,918	2,651
H ₂ O ₂	32,230	62,140	4,772	0,859
Prolina	49,070	39,296	10,549	1,085
Chlorofil <i>a</i>	34,055	64,109	1,766	0,070
Chlorofil <i>b</i>	26,706	71,041	2,090	0,163
Chlorofil <i>a+b</i>	32,467	65,690	1,771	0,072
Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i>	13,128	47,406	27,845	11,621
Car	12,797	85,310	1,611	0,100
Chlorofil <i>a+b</i> /Car	82,785	7,292	9,723	0,200
Sucha masa	13,919	79,367	6,294	0,420
Plon świeżej masy	49,295	46,768	3,504	0,432
[BMIM][Cl]				
POD	5,376	77,998	15,383	1,242
CAT	15,618	43,669	32,892	7,821
SOD	23,159	12,689 n.i.	22,883 n.i.	41,269
MDA	57,077	34,737	3,305	4,881
H ₂ O ₂	19,940	75,912	3,917	0,230
Prolina	56,329	38,321	3,830	1,520
Chlorofil <i>a</i>	11,100	82,108	6,580	0,211
Chlorofil <i>b</i>	8,457	82,169	9,035	0,339
Chlorofil <i>a+b</i>	10,597	82,185	7,013	0,205
Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i>	50,950	18,626	14,960	15,465
Car	9,098	85,898	4,734	0,270
Chlorofil <i>a+b</i> /Car	1,321	35,328	59,307	4,045
Sucha masa	3,052	92,073	3,527	1,348
Plon świeżej masy	50,945	43,615	5,166	0,274
[OMIM][Cl]				
POD	19,043	62,418	18,118	0,421
CAT	4,860	69,918	20,113	5,109
SOD	12,478	57,903	14,373	15,246
MDA	68,728	16,106	12,688	2,478
H ₂ O ₂	13,279	76,289	9,465	0,967
Prolina	8,459	84,612	5,769	1,160
Chlorofil <i>a</i>	3,392	94,017	2,389	0,201
Chlorofil <i>b</i>	11,347	86,192	2,327	0,133
Chlorofil <i>a+b</i>	4,414	93,131	2,286	0,169
Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i>	74,081	8,802	14,602	2,515
Car	2,431	95,290	2,019	0,259
Chlorofil <i>a+b</i> /Car	78,756	9,991	9,527	1,726
Sucha masa	0,243	97,447	2,105	0,205
Plon świeżej masy	19,911	73,243	6,414	0,432

n.i. – nieistotne statystycznie na poziomie $p < 0,05$

Uzyskane wyniki wskazują, że stężenie badanych związków miało największy wpływ na większość badanych parametrów. Zaobserwowano, że za wyjątkiem [TOA][Cl], stężenie badanych związków miało największy wpływ na zmiany aktywności POD, zawartość H₂O₂, suchej masy, z reguły plonu świeżej masy, oraz zawartość chlorofili oraz karotenoidów. Czas narażenia roślin na badany związek (termin prowadzenia badań) miał natomiast największy wpływ na zawartość MDA oraz wzajemny stosunek zawartości poszczególnych barwników asymilacyjnych. Wielkość zmian poziomu wolnej proliny zależna była i od terminu badań i od zastosowanego stężenia. W przypadku zmian aktywności dysmutazy nadtlenkowej i katalazy, ze względu na wyznaczony bardzo duży błąd, nie można dokonać powyższych analiz.

W toku prowadzonych badań dokonano również analizy miary wpływu η^2 wszystkich parametrów łącznie dla amoniowych ILs (Tabela 15) oraz imidazoliowych ILs (Tabela 16).

Tabela 15. Procentowy udział wszystkich czynników wpływających na zmiany badanych parametrów fitotoksyczności i stresu oksydacyjnego u jęczmienia jarego, pod wpływem soli amoniowych.

Parametr	termin (A)	związek (B)	interakcja A x B	stężenie (C)	interakcja A x C	interakcja B x C	interakcja A x B x C	błąd
POD	12,810	10,785	4,905	28,553	7,245	23,692	11,251	0,758
CAT	10,794	37,397	12,175	5,001	7,605	12,027	10,554	4,447
SOD	23,075	55,561	3,957	2,661	2,078	2,485	2,981	7,200
MDA	47,150	18,473	2,066	17,349	3,064	6,530	3,585	1,783
H ₂ O ₂	8,105	35,189	2,055	37,843	3,665	6,350	6,248	0,546
Prolina	18,164	21,912	1,269	31,191	1,867	22,856	1,688	1,053
Chlorofil <i>a</i>	9,693	18,665	3,240	40,749	1,157	22,415	3,227	0,853
Chlorofil <i>b</i>	12,039	23,427	4,720	32,248	1,430	22,273	3,416	0,448
Chlorofil <i>a+b</i>	10,746	19,298	3,807	38,663	1,129	23,262	2,801	0,294
Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i>	10,900	22,451	21,023	2,529	7,415	14,217	17,968	3,389
Car	5,811	23,995	11,707	38,276	1,023	17,058	1,880	0,252
Chlorofil <i>a+b</i> /Car	7,018	23,577	45,812	13,544	2,656	2,068	4,719	0,606
Sucha masa	1,249	29,597	0,411	39,524	0,096	27,938	0,629	0,555
Plon świeżej masy	30,718	14,855	1,789	28,432	2,829	18,912	1,934	0,531

Tabela 16. Procentowy udział wszystkich czynników wpływających na zmiany badanych parametrów fitotoksyczności i stresu oksydacyjnego u jęczmienia jarego, pod wpływem soli imidazoliowych.

Parametr	termin (A)	związek (B)	interakcja A x B	stężenie (C)	interakcja A x C	interakcja B x C	interakcja A x B x C	błąd
POD	11,753	13,896	5,636	46,684	7,639	8,899	5,042	0,450
CAT	4,119	19,714	4,806	36,017	13,796	11,930	4,407	5,211
SOD	11,505	42,637	7,070	7,830	2,807	14,103	5,816	8,224
MDA	47,745	11,440	6,884	17,825	5,515	1,933	3,585	2,917
H ₂ O ₂	16,555	27,700	0,904	38,381	0,845	11,053	4,104	0,458
Prolina	24,294	13,890	2,566	42,450	4,219	9,752	1,761	1,067
Chlorofil <i>a</i>	10,870	9,668	3,929	68,067	0,847	4,375	2,128	0,116
Chlorofil <i>b</i>	14,300	5,727	2,552	68,956	1,121	5,172	2,033	0,139
Chlorofil <i>a+b</i>	11,653	8,829	3,224	68,677	0,908	4,544	2,062	0,104
Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i>	12,962	6,381	54,796	5,048	5,199	6,424	5,067	4,122
Car	2,838	13,298	2,858	75,060	1,167	3,629	1,049	0,102
Chlorofil <i>a+b</i> /Car	49,595	6,820	23,871	8,506	6,503	0,913	3,081	0,711
Sucha masa	4,010	2,279	1,909	82,671	2,693	4,787	1,253	0,397
Plon świeżej masy	31,073	14,679	4,159	44,481	3,794	0,931	0,599	0,285

Przeprowadzona analiza wpływu wszystkich badanych parametrów dla 2 grup związków również wskazuje, że termin prowadzenia badań miał największy wpływ na zawartość MDA w siewkach jęczmienia jarego oraz duży wpływ na wielkość plonu świeżej masy roślin. Rodzaj zastosowanego związku miał natomiast duży wpływ na zawartość H_2O_2 . Podobnie, jak to miało miejsce w przypadku analiz dwuczynnikowych, przeprowadzonych osobno dla każdego związku, również analizy trójczynnikowe niezbicie dowiodły, że najważniejszym czynnikiem wpływającym na wielkość większości parametrów fitotoksyczności i objawów stresu oksydacyjnego jest stężenie cieczy jonowych. Zastosowane stężenie ILs miało największy wpływ na aktywność POD, zawartość H_2O_2 , wolnej proliny, barwników asymilacyjnych, suchej masy oraz wielkość plonu świeżej masy roślin. W przypadku zmian aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy, ze względu na wyznaczony bardzo duży błąd, również nie można dokonać analizy otrzymanych wyników. Zależności zaobserwowane i uwidocznione w zaprezentowanej analizie statystycznej, potwierdzają wcześniejsze obserwacje dotyczące wpływu czasu badania, stężenia i zastosowanego związku, dokonane i analizowane zarówno w omawianych tutaj badaniach, jak i tych uzyskanych przez wcześniej cytowanych badaczy oceniających wpływ ILs na rośliny.

3. Możliwości wykorzystania uzyskanych wyników badań w praktyce

W 2018 roku ludność świata liczyła ponad 7,6 mld, a coroczny jej wzrost szacuje się na 76 mln osób. Niesie to za sobą olbrzymie wyzwanie dla rolnictwa i przemysłu związane z zapewnieniem pożywienia dla tak olbrzymiej liczby osób. Sprostanie takiemu wyzwaniu może jedynie prężnie działające rolnictwo wykorzystujące najnowsze technologie wspierane przez zakrojone na szeroką skalę badania interdyscyplinarno-rozwojowe. Badania takie i idący za tym rozwój dotyczą agronomii, hodowli zwierząt, ogrodnictwa, inżynierii rolniczej, agrofizyki oraz połączenia tych dyscyplin z szeroko rozumianą ochroną środowiska. Rozwój rolnictwa i związanych z nim badań, dotyczy z jednej strony zwiększenia wydajności produkcji rolnej, w przypadku roślin stworzenie czy dobór takich odmian roślin, które będą jak najlepiej dostosowane do zmieniających się warunków klimatycznych, będących odpornymi na różne choroby i dających jednocześnie wysokie plony o jak najlepszych parametrach oraz cechach pozwalających na ich przechowywanie.

Uzyskanie oczekiwanych plonów związane jest jednocześnie z koniecznością odpowiedniego nawożenia roślin oraz ochrony upraw przed czynnikami niekorzystnie na nie wpływającymi tj. wszelkiego typu zanieczyszczenia, choroby grzybowe czy chwasty. Chwasty to wszystkie niepożądane w danej uprawie rośliny, które będą konkurowały z właściwym plonem o światło, wodę i składniki pokarmowe. Jednocześnie szybki wzrost i rozwój tego typu roślin może prowadzić do zagłuszania upraw, a co za tym idzie zmniejszenia plonu i pogorszenie się jego jakości. Chwasty mogą również powodować opóźnienie zbioru oraz generować dodatkowe koszty związane z koniecznością oczyszczania zbiorów z pozostałości chwastów.

Od wielu lat z pomocą rolnikom przychodzą naukowcy i prężnie działająca branża, która dostarcza chemiczne środki ochrony roślin zwane herbicydami. Herbicydy należą do najczęściej stosowanych środków ochrony roślin na świecie. Do najczęściej stosowanych związków w ochronie roślin należą glifosat, 2,4-D (kwas 2,4-dichloro-fenoksyoctowy), dikamba (kwas 3,6-dichloro-2-metoksybenzoowy) i MCPA (kwas (4-chloro-2-metylofenoksy)-octowy). Corocznie obserwujemy wzrost produkcji różnego typu preparatów chwastobójczych. Jednocześnie z obrotu ze względu np. na odkryte właściwości toksyczne wycofywane są kolejne związki. Obserwujemy również zjawisko uodparniania się chwastów na niektóre herbicydy. Konieczne jest zatem syntezywanie i produkowanie nowych związków, które będą wykazywały selektywne lub totalne właściwości herbicydowe, będą mogły być stosowane w jak najmniejszych dawkach, a jednocześnie będą bezpieczne dla środowiska naturalnego. Interesującą alternatywą dla tradycyjnie stosowanych środków chwastobójczych wydają się być herbicydowe ciecze jonowe (HILs), czyli ciecze jonowe w których jeden z jonów wykazuje udowodnioną już i przebadaną aktywność herbicydową. Warto jednak równocześnie zwrócić uwagę na inne ciecze jonowe, które jak się okazało wykazują toksyczność w stosunku do różnych gatunków roślin i ocenić, czy nie da się wykorzystać ich właściwości w celu zwalczania roślin niepożądanych.

3.1. Właściwości chwastobójcze badanych ILs

Metodyka badań

Eksperyment wazonowy dotyczący oznaczenia potencjalnych właściwości fitotoksycznych [TEA][Cl], [TBA][Cl], [TOA][Cl], [EMIM][Cl], [BMIM][Cl] oraz [OMIM][Cl] dla chwastów, został przeprowadzony w hali wegetacyjnej Zakładu Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii, Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie.

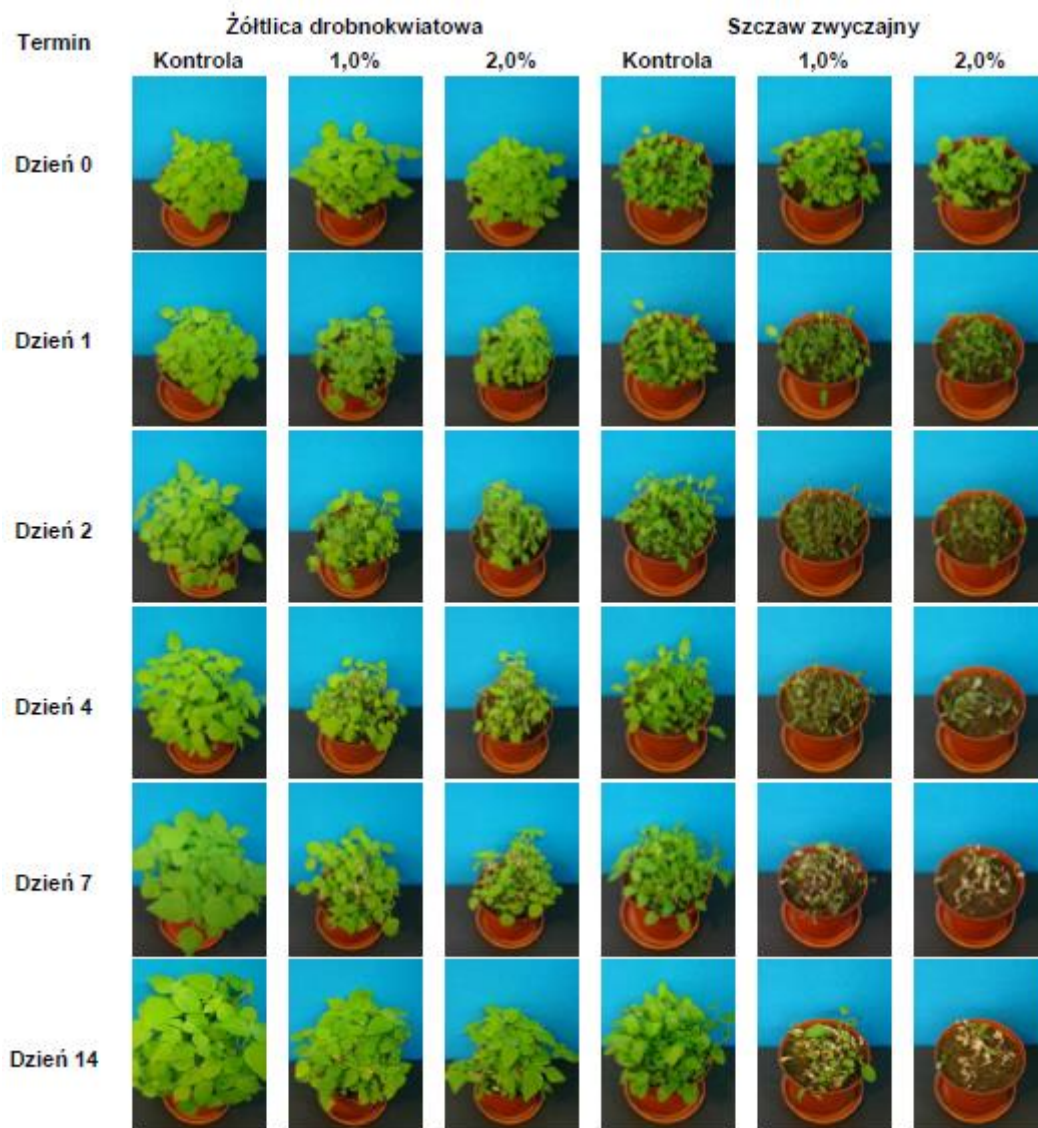
Do doniczek plastikowych o średnicy 90 mm zawierających 250 g gleby, wysiano jednakową ilość (określoną w sposób wagowy) nasion żótlicy drobnokwiatowej (*Galinsoga parviflora* Cav.), i szczawiu zwyczajnego (*Rumex acetosa* L.). Gleba użyta w doświadczeniu oraz wszystkie parametry prowadzenia badań były identyczne, jak w przypadku omawianych wcześniej badań prowadzonych dla jęczmienia jarego. Po 3 tygodniach od wschodów, rośliny zostały opryskane roztworami badanych związków. Ciecze jonowe do oprysków zostały użyte w postaci roztworów wodnych w stężeniach 1,0% i 2,0%. W analogiczny sposób przygotowano również kontrole, które opryskano wodą destylowaną bez dodatku związków. Badania prowadzone były przez 14 dni od momentu oprysku.

Jako wskaźnik toksyczności badanych związków posłużyła ocena wizualna zahamowania wzrostu, powstałych uszkodzeń czy usychania badanych gatunków chwastów, co zostało udokumentowane w postaci zdjęć cyfrowych przedstawionych w niniejszej pracy. Oznaczono również zawartość chlorofilu i karotenoidów w badanych roślinach oraz inhibicję wzrostu roślin i ich korzeni. Oznaczenia te wykonano zgodnie z metodykami przedstawionymi w rozdziale Metodyka badań.

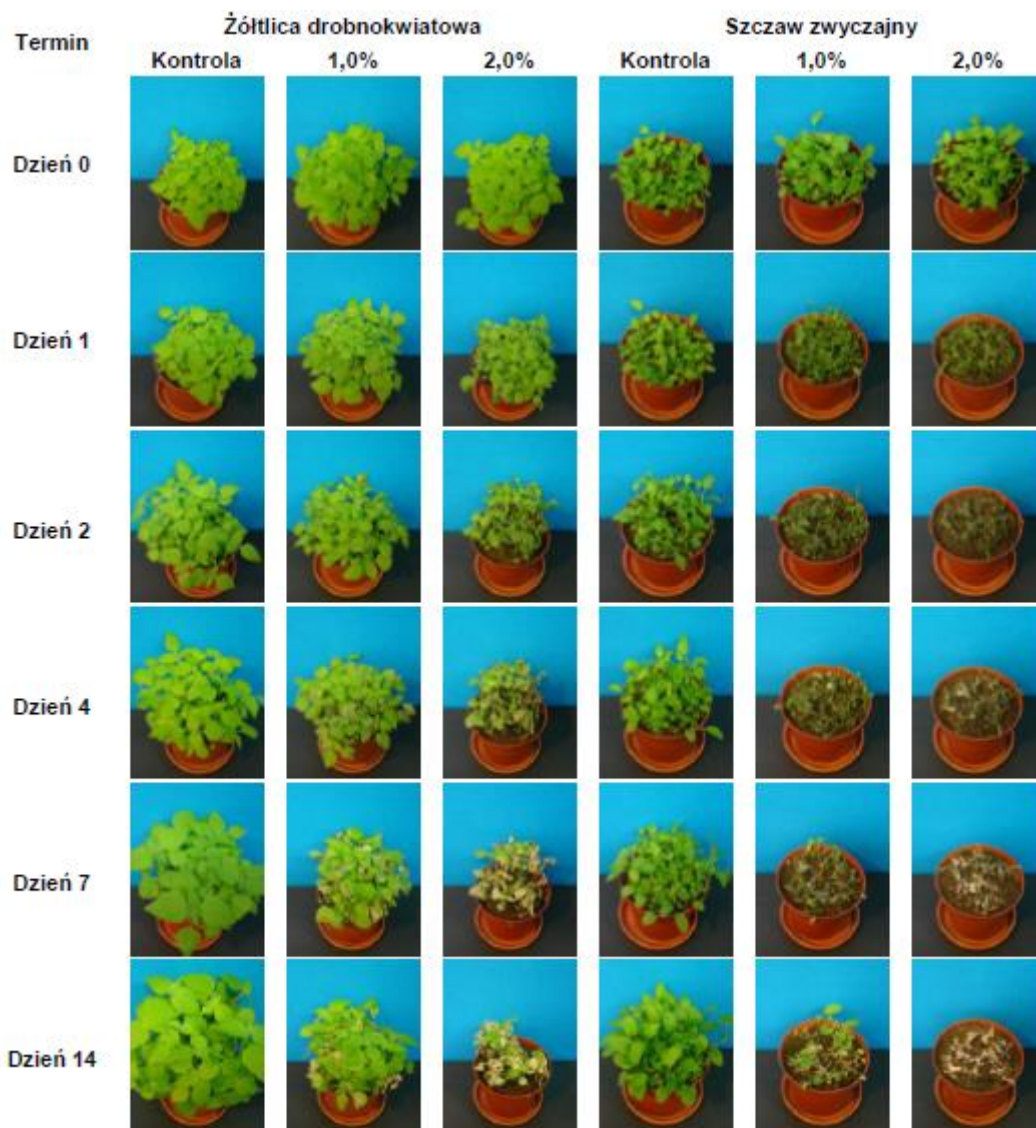
Rezultaty i dyskusja

Uzyskane w omawianym eksperymencie wyniki badań, dotyczących wpływu amoniowych i imidazoliowych ILs z podstawnikami o różnej długości, zastosowanych w postaci oprysku na liście żótlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego wskazują, że większość z zastosowanych związków wykazuje właściwości chwastobójcze. Na obserwowaną toksyczność duży wpływ miał rodzaj zastosowanego związku, jego stężenie oraz gatunek chwastu, na który dany związek działał. Najsilniejsze właściwości chwastobójcze wykazał [OMIM][Cl], który powodował usychanie obu roślin nawet przy zastosowaniu stężenia 1%. Ze związków amoniowych największe właściwości chwastobójcze wykazał [TBA][Cl]. Jedynym związkiem który praktycznie nie wykazał żadnego wpływu na żótlicę drobnokwiatową i szczaw zwyczajny był [TOA][Cl]. Toksyczność amoniowych ILs można uszeregować: [TBA][Cl] > [TEA][Cl] > [TOA][Cl] natomiast imidazoliowych ILs [OMIM][Cl] > [BMIM][Cl] > [EMIM][Cl]. Rośliną wykazującą większą wrażliwość na zastosowane związki był szczaw zwyczajny. Poza [TOA][Cl], wszystkie pozostałe związki powodowały zmiany w wyglądzie roślin już po jednym dniu od zastosowanego oprysku, a w kolejnych dniach część roślin lub wszystkie usychały. W przypadku roślin, które „przetwały” obserwowano inhibicję wzrostu ich części nadziemnych i korzeni.

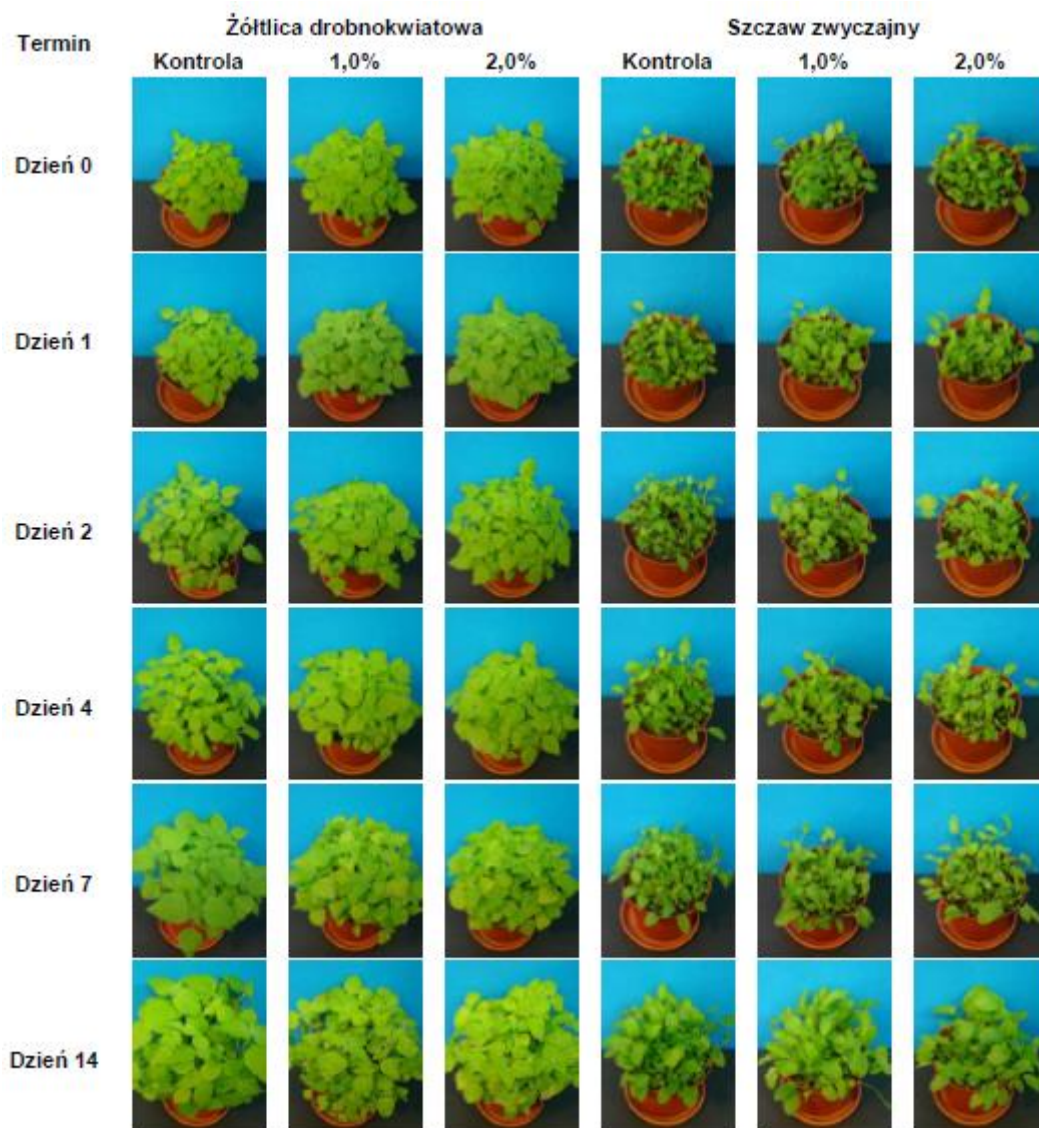
Zmiany te następowały tym szybciej, im wyższe stężenie związku zostało zastosowane (Rys. 30-35).



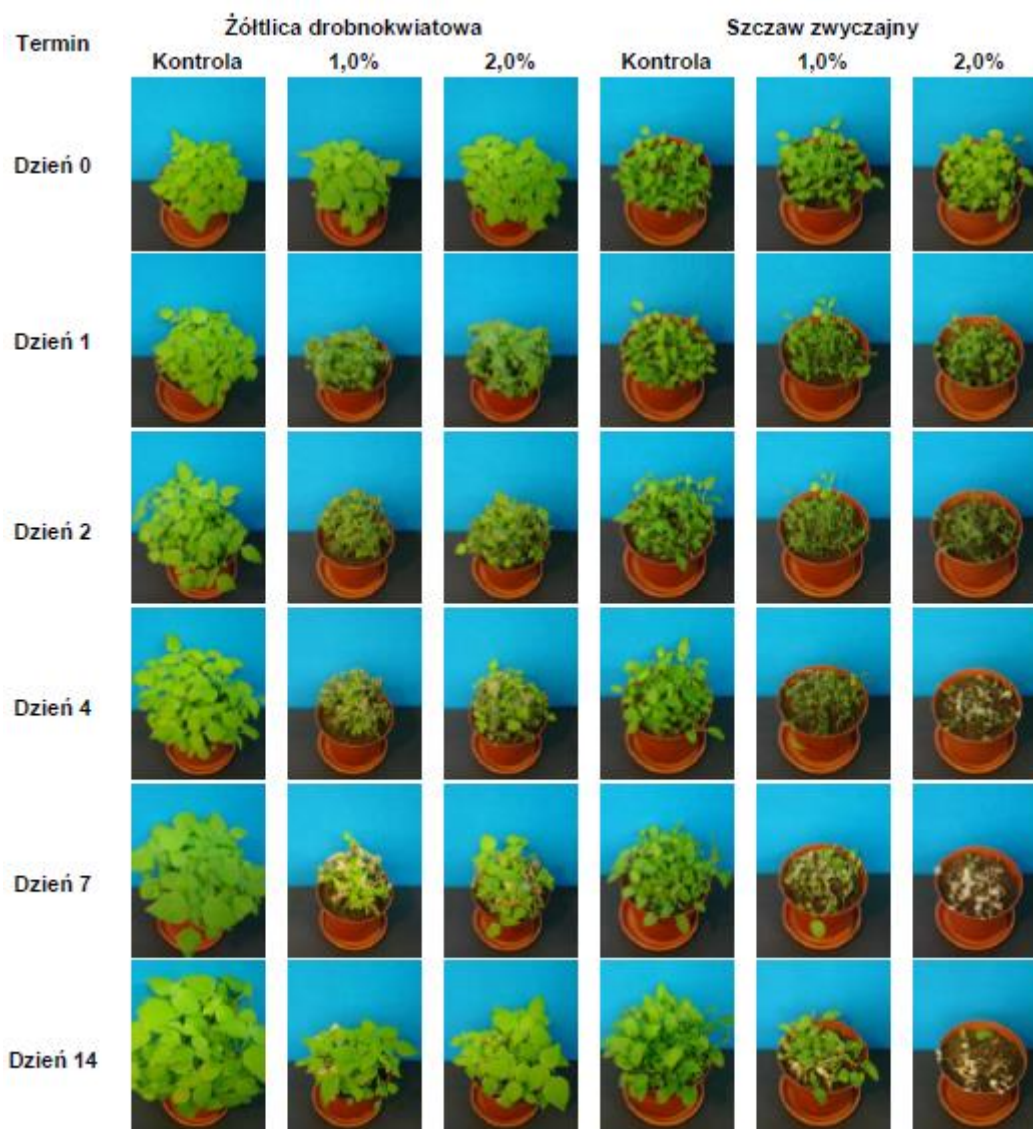
Rys. 30. Reakcja chwastów na oprysk roztworami [TEA][Cl].



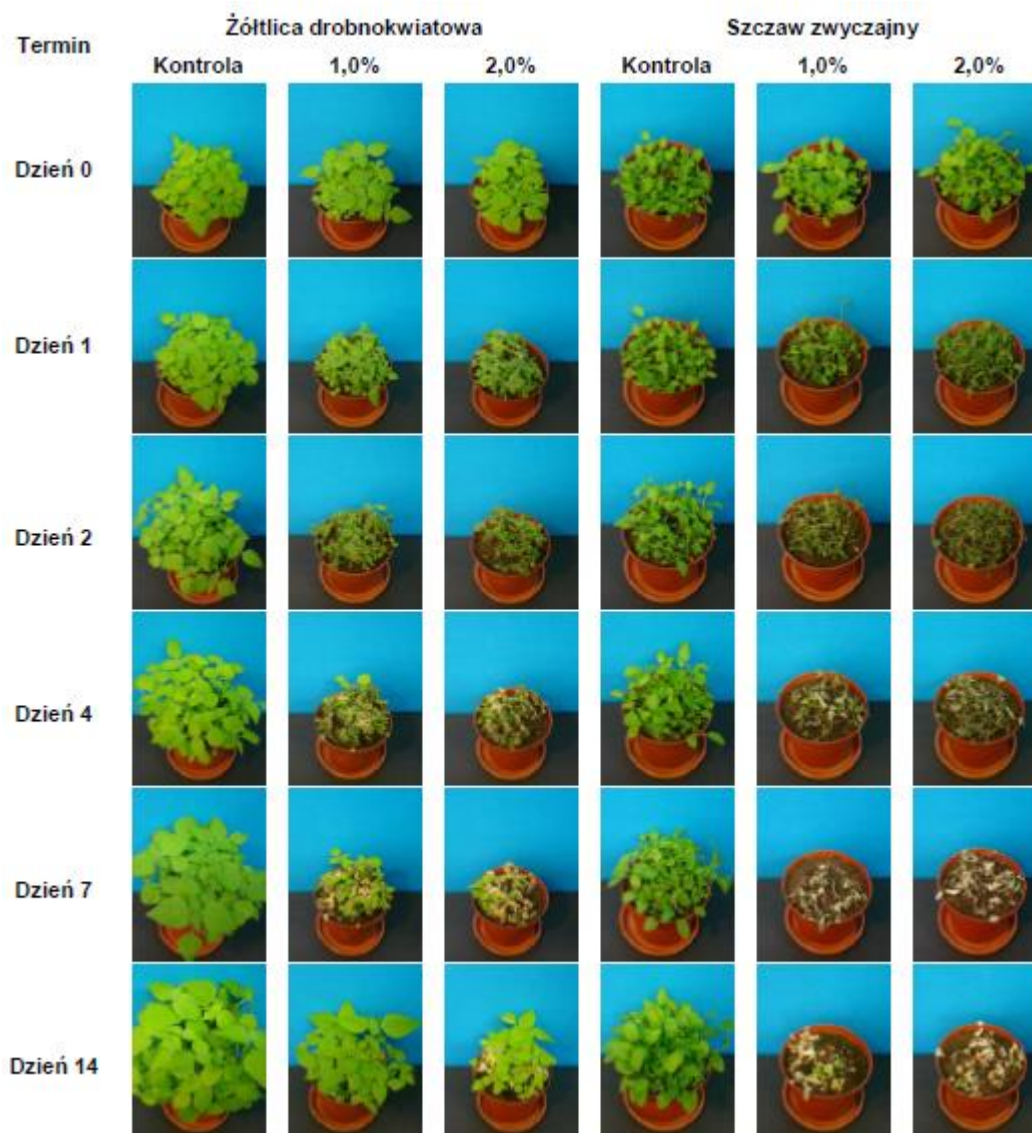
Rys. 31. Reakcja chwastów na oprysk roztworami [TBA][Cl].



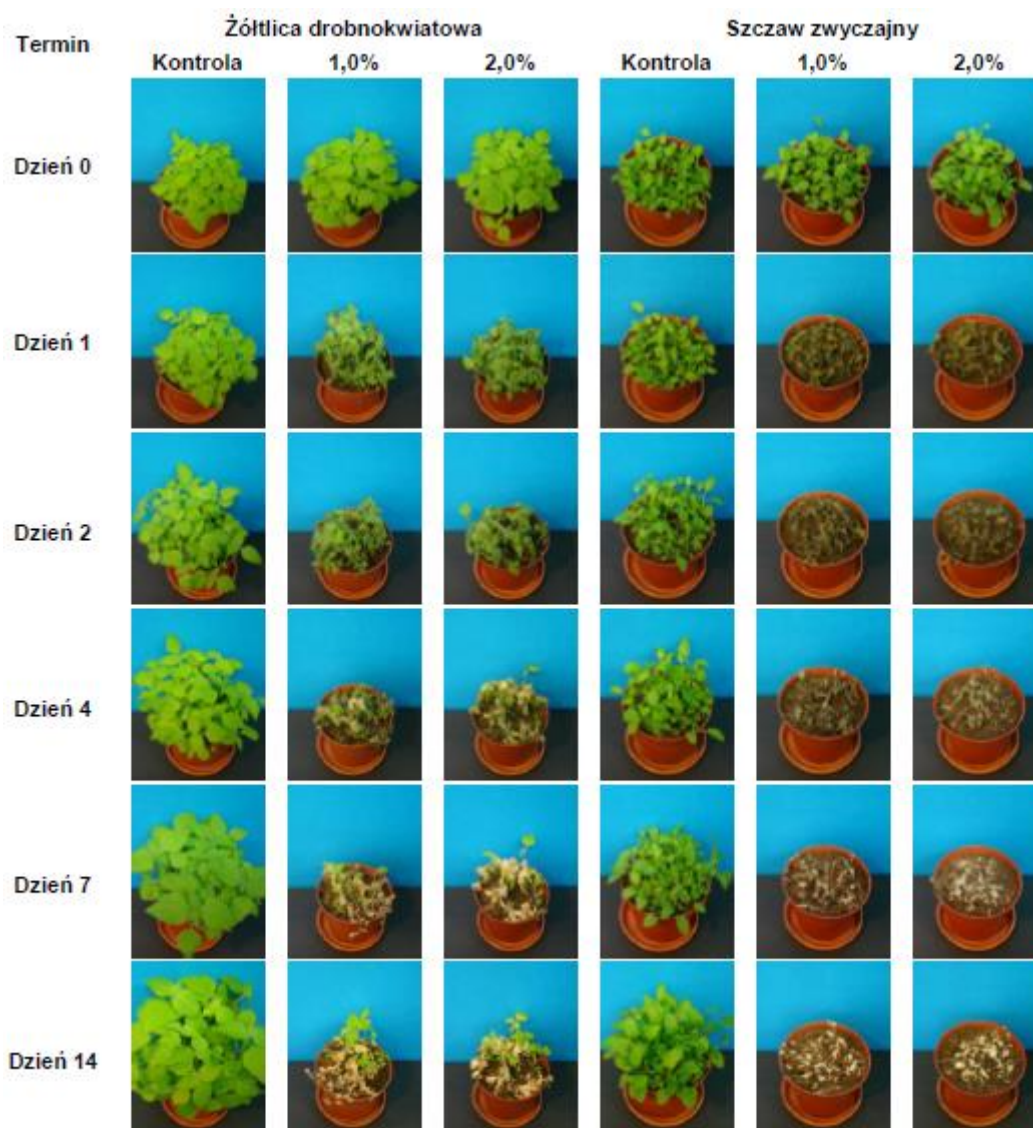
Rys. 32. Reakcja chwastów na oprysk roztworami [TOA][Cl].



Rys. 33. Reakcja chwastów na oprysk roztworami [EMIM][Cl].



Rys. 34. Reakcja chwastów na oprysk roztworami [BMIM][Cl].



Rys. 35. Reakcja chwastów na oprysk roztworami [OMIM][Cl].

Obserwacje dokonane na podstawie wyglądu roślin znalazły odzwierciedlenie w wartościach inhibicji długości części nadziemnych roślin (Tabela 17) oraz długości korzeni (Tabela 18). W przypadku pięciu zastosowanych ILs obserwowano inhibicję długości części nadziemnych roślin. Zgodnie z tym co zaobserwowano na podstawie wyglądu roślin, największe wartości inhibicji długości części nadziemnych roślin żółtlicy drobnokwiatowej oraz szczawiu zwyczajnego stwierdzono po zastosowaniu oprysku związkami [OMIM][Cl], [BMIM][Cl] i [TBA][Cl] i wynosiły one około 50% w odniesieniu do kontroli. W przypadku wpływu badanych ILs zastosowanych w postaci oprysków na długość korzeni szczawiu zwyczajnego, jedynie po zastosowaniu oprysku roztworami [TOA][Cl] nie obserwowano większych zmian w długości korzeni opryskanych roślin. Opryskanie liści żółtlicy drobnokwiatowej roztworami badanych ILs nie powodowało tak dużych wartości inhibicji długości korzeni tej rośliny, jak miało to miejsce po ich zastosowaniu na liście szczawiu zwyczajnego. Jedynie zastosowanie oprysku 2% roztworem [TBA][Cl] w obu

terminach badań oraz roztworami [OMIM][Cl] w 14 dniu badań powodowało widoczną inhibicję długości korzeni żóltlicy drobnokwiatowej.

Tabela 17. Długości części nadziemnych roślin (cm) przed i po oprysku chwastów roztworami ILS o stężeniu 0, 1,0 i 2,0% (średnia ± odch. stand., n = 3). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych roślin w kolejnych terminach badań nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

	Dzień 0	Dzień 7	Dzień 14
Żóltlica drobnokwiatowa			
Kontrola	8,34±0,73 ^b	11,27±1,46 ^a	12,76±1,92 ^a
1% [TEA][Cl]		8,04±1,61 ^b	8,95±0,96 ^{bc}
2% [TEA][Cl]		7,48±1,53 ^{bc}	8,32±0,97 ^c
1% [TBA][Cl]		5,67±0,94 ^{cd}	8,38±1,64 ^c
2% [TBA][Cl]		4,90±0,78 ^d	5,43±0,92 ^{de}
1% [TOA][Cl]		9,63±1,33 ^{ab}	11,09±1,24 ^{ab}
2% [TOA][Cl]		8,45±1,91 ^b	11,21±0,0101 ^{ab}
1% [EMIM][Cl]		7,48±1,64 ^b	7,38±1,73 ^{cd}
2% [EMIM][Cl]		4,31±0,31 ^d	8,38±1,60 ^c
1% [BMIM][Cl]		4,47±0,31 ^d	6,73±1,58 ^{cde}
2% [BMIM][Cl]		4,92±1,08 ^d	5,55±1,56 ^{de}
1% [OMIM][Cl]		4,89±1,15 ^d	4,07±1,20 ^e
2% [OMIM][Cl]		4,70±0,80 ^d	4,56±1,48 ^e
Szczaw zwyczajny			
Kontrola	4,32±0,49 ^{ab}	5,22±0,51 ^a	7,03±1,37 ^a
1% [TEA][Cl]		2,64±0,59 ^c	3,29±1,00 ^b
2% [TEA][Cl]		2,91±0,63 ^c	2,23±0,62 ^{bc}
1% [TBA][Cl]		2,76±0,84 ^c	2,80±0,81 ^{bc}
2% [TBA][Cl]		2,69±0,56 ^c	2,20±0,37 ^{bc}
1% [TOA][Cl]		4,77±0,52 ^a	5,81±0,93 ^a
2% [TOA][Cl]		4,34±0,88 ^{ab}	5,65±1,23 ^a
1% [EMIM][Cl]		3,41±1,06 ^{bc}	3,40±0,75 ^b
2% [EMIM][Cl]		3,03±0,71 ^c	2,34±0,56 ^{bc}
1% [BMIM][Cl]		3,32±0,92 ^{bc}	2,26±0,55 ^{bc}
2% [BMIM][Cl]		2,87±0,79 ^c	2,55±0,69 ^{bc}
1% [OMIM][Cl]		3,01±0,68 ^c	2,13±0,24 ^{bc}
2% [OMIM][Cl]		2,60±0,43 ^c	1,62±0,34 ^c

Tabela 18. Długości korzeni roślin (cm) przed i po oprysku chwastów roztworami ILS o stężeniu 0, 1,0 i 2,0% (średnia \pm odch. stand., n = 3). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych roślin w kolejnych terminach badań nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

	Dzień 0	Dzień 7	Dzień 14
Żółtlica drobnokwiatowa			
Kontrola	4,74 \pm 1,96 ^{bc}	6,85 \pm 2,24 ^{ab}	7,79 \pm 3,67 ^{ab}
1% [TEA][CI]		6,38 \pm 1,54 ^{abc}	7,09 \pm 1,88 ^{ab}
2% [TEA][CI]		7,97 \pm 1,14 ^a	6,15 \pm 1,75 ^{ab}
1% [TBA][CI]		6,46 \pm 2,02 ^{abc}	7,20 \pm 1,69 ^{ab}
2% [TBA][CI]		3,67 \pm 1,51 ^c	3,13 \pm 1,61 ^{cd}
1% [TOA][CI]		5,56 \pm 2,47 ^{abc}	8,05 \pm 2,67 ^a
2% [TOA][CI]		5,85 \pm 1,98 ^{abc}	8,13 \pm 1,49 ^a
1% [EMIM][CI]		6,82 \pm 1,99 ^{ab}	5,33 \pm 2,29 ^{bc}
2% [EMIM][CI]		4,09 \pm 2,68 ^{bc}	7,31 \pm 2,15 ^{ab}
1% [BMIM][CI]		4,10 \pm 2,74 ^{bc}	5,81 \pm 1,67 ^{ab}
2% [BMIM][CI]		5,14 \pm 2,20 ^{abc}	6,05 \pm 1,85 ^{ab}
1% [OMIM][CI]		4,08 \pm 2,50 ^{bc}	2,28 \pm 0,97 ^d
2% [OMIM][CI]		5,77 \pm 2,84 ^{abc}	2,65 \pm 1,33 ^d
Szczaw zwyczajny			
Kontrola	4,86 \pm 1,46 ^a	6,07 \pm 0,47 ^a	7,51 \pm 0,87 ^a
1% [TEA][CI]		3,05 \pm 1,74 ^{bcd}	4,72 \pm 2,19 ^{bc}
2% [TEA][CI]		1,42 \pm 0,81 ^d	2,59 \pm 0,97 ^{def}
1% [TBA][CI]		2,33 \pm 1,21 ^{bcd}	4,23 \pm 2,0 ^{bcd}
2% [TBA][CI]		2,42 \pm 1,73 ^{bcd}	1,71 \pm 0,45 ^{ef}
1% [TOA][CI]		4,73 \pm 1,53 ^{ab}	6,85 \pm 1,88 ^a
2% [TOA][CI]		4,61 \pm 1,94 ^{abc}	7,14 \pm 1,46 ^a
1% [EMIM][CI]		4,35 \pm 1,77 ^{abc}	5,84 \pm 2,46 ^{ab}
2% [EMIM][CI]		3,31 \pm 1,52 ^{bcd}	2,39 \pm 2,23 ^{def}
1% [BMIM][CI]		3,36 \pm 1,75 ^{bcd}	3,35 \pm 0,80 ^{cde}
2% [BMIM][CI]		2,74 \pm 1,60 ^{bcd}	1,81 \pm 1,34 ^{ef}
1% [OMIM][CI]		3,09 \pm 1,55 ^{bcd}	1,96 \pm 0,82 ^{ef}
2% [OMIM][CI]		1,97 \pm 0,95 ^{cd}	1,11 \pm 0,54 ^f

W wyniku przeprowadzonych badań określono również wpływ badanych ILS na zawartość suchej masy w roślinach szczawiu zwyczajnego oraz żółtlicy drobnokwiatowej (Tabela 19). W tabeli zaprezentowano wyłącznie wyniki, które udało się uzyskać. W przypadku pozostałych roślin, które uschły po oprysku, brak było możliwości określenia zawartości suchej masy.

Tabela 19. Zawartość suchej masy ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ św.m.) w roślinach żółtlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego przed i po oprysku roztworami badanych ILS (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych roślin w kolejnych terminach badań nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

	Dzień 0	Dzień 7	Dzień 14
Żółtlica drobnokwiatowa			
Kontrola	0,0565 \pm 0,0023 ^g	0,0653 \pm 0,0057 ^g	0,1125 \pm 0,0097 ^{bcd}
1% [TEA][Cl]		0,0818 \pm 0,0050 ^{fg}	0,1088 \pm 0,0052 ^{bcd}
2% [TEA][Cl]		0,1059 \pm 0,0021 ^f	0,1064 \pm 0,0058 ^{bcd}
1% [TBA][Cl]		0,1378 \pm 0,0400 ^e	0,1187 \pm 0,0167 ^{bcd}
2% [TBA][Cl]		0,2119 \pm 0,0007 ^{bc}	0,1999 \pm 0,0010 ^a
1% [TOA][Cl]		0,0780 \pm 0,0037 ^{fg}	0,1394 \pm 0,0101 ^b
2% [TOA][Cl]		0,0677 \pm 0,0041 ^g	0,1342 \pm 0,0101 ^{bc}
1% [EMIM][Cl]		0,1054 \pm 0,0281 ^f	0,0971 \pm 0,0362 ^{cde}
2% [EMIM][Cl]		0,1985 ^{cd}	0,1108 \pm 0,0096 ^{bcd}
1% [BMIM][Cl]		0,1980 ^{cd}	0,0844 \pm 0,0155 ^{de}
2% [BMIM][Cl]		0,1780 \pm 0,0015 ^d	0,0995 \pm 0,0013 ^{cde}
1% [OMIM][Cl]		0,2399 \pm 0,0022 ^b	0,0718 \pm 0,0009 ^e
2% [OMIM][Cl]		0,3632 \pm 0,0019 ^a	0,0909 \pm 0,0020 ^{de}
Szczaw zwyczajny			
Kontrola	0,0721 \pm 0,0075 ^a	0,0655 \pm 0,0038 ^a	0,0700 \pm 0,0023 ^d
1% [TEA][Cl]		-	0,1808 \pm 0,0024 ^b
1% [TBA][Cl]		-	0,2660 \pm 0,0016 ^a
1% [TOA][Cl]		0,0689 \pm 0,0024 ^a	0,0715 \pm 0,0021 ^d
2% [TOA][Cl]		0,0776 \pm 0,0087 ^a	0,0734 \pm 0,0025 ^d
1% [EMIM][Cl]		-	0,1151 \pm 0,0009 ^c

Zastosowanie wszystkich badanych ILS w postaci oprysków powodowało wzrost zawartości suchej masy w roślinach żółtlicy drobnokwiatowej. W przypadku zastosowania imidazoliowych ILS zawartość suchej masy wzrastała wraz z długością łańcucha alkilowego zastosowanego związku oraz wraz ze stężeniem związku. Z amoniowych ILS najsilniejszy wpływ na zawartość suchej masy w liściach żółtlicy drobnokwiatowej wykazał [TBA][Cl]. Zastosowanie oprysków badanymi ILS na rośliny szczawiu zwyczajnego spowodowało, że większość opryskanych roślin uschła, co nie pozwoliło na przeprowadzenie badań zawartości suchej masy czy barwników asymilacyjnych. Związkiem, który nie miał większego wpływu na zawartość suchej masy w roślinach szczawiu zwyczajnego był [TOA][Cl]. Rośliny szczawiu, które nie uschły po zastosowaniu oprysku roztworami 1% [TEA][Cl], 1% [TBA][Cl] oraz 1% [EMIM][Cl] i urosły, co pozwoliło w 14 dniu na zebranie materiału w ilości umożliwiającej przeprowadzenie badań, również charakteryzowały się zwiększoną zawartością suchej masy w stosunku do roślin kontrolnych.

W celu określenia wpływu ILs na żółtlicę drobnokwiatową i szczaw zwyczajny dokonano również oceny zawartości barwników asymilacyjnych w liściach tych roślin (Tabela 20-23). W tabelach zaprezentowano wyłącznie wyniki, które udało się uzyskać. W przypadku pozostałych roślin, które uschły po oprysku, brak było możliwości określenia zawartości barwników asymilacyjnych.

Tabela 20. Zawartość chlorofilu *a* ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m.) w liściach żółtlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego opryskanych roztworami ILs o stężeniach 0, 1,0 i 2,0% (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych roślin w kolejnych terminach badań nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

	Dzień 0	Dzień 7	Dzień 14
Żółtlica drobnokwiatowa			
Kontrola	14,656 \pm 0,103 ^a	14,586 \pm 0,095 ^a	8,250 \pm 0,153 ^e
1% [TEA][Cl]		11,404 \pm 0,010 ^c	8,838 \pm 0,140 ^d
2% [TEA][Cl]		7,676 \pm 0,044 ^f	9,327 \pm 0,058 ^c
1% [TBA][Cl]		6,580 \pm 0,053 ^g	7,557 \pm 0,075 ^{fg}
2% [TBA][Cl]		3,771 \pm 0,016 ⁱ	4,001 \pm 0,043 ⁱ
1% [TOA][Cl]		10,720 \pm 0,164 ^d	6,080 \pm 0,006 ^h
2% [TOA][Cl]		13,345 \pm 0,385 ^b	6,103 \pm 0,048 ^h
1% [EMIM][Cl]		8,765 \pm 0,115 ^e	8,479 \pm 0,110 ^e
2% [EMIM][Cl]		3,267 \pm 0,056 ^j	9,026 \pm 0,146 ^d
1% [BMIM][Cl]		3,376 \pm 0,040 ^j	10,202 \pm 0,068 ^b
2% [BMIM][Cl]		4,214 \pm 0,040 ^h	8,094 \pm 0,231 ^{ef}
1% [OMIM][Cl]		2,616 \pm 0,015 ^k	11,030 \pm 0,317 ^a
2% [OMIM][Cl]		1,766 \pm 0,005 ^l	7,726 \pm 0,125 ^g
Szczaw zwyczajny			
Kontrola	10,750 \pm 0,103 ^b	11,726 \pm 0,129 ^a	13,589 \pm 0,229 ^a
1% [TEA][Cl]		-	4,694 \pm 0,037 ^d
1% [TBA][Cl]		-	2,958 \pm 0,029 ^e
1% [TOA][Cl]		10,426 \pm 0,217 ^b	13,104 \pm 0,019 ^a
2% [TOA][Cl]		8,397 \pm 0,395 ^c	11,375 \pm 0,066 ^b
1% [EMIM][Cl]		-	7,503 \pm 0,677 ^c

Tabela 21. Zawartość chlorofilu *b* ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m.) w liściach żóltlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego opryskanych roztworami ILs o stężeniach 0, 1,0 i 2,0% (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych roślin w kolejnych terminach badań nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

	Dzień 0	Dzień 7	Dzień 14
Żóltlica drobnokwiatowa			
Kontrola	4,140 \pm 0,095 ^b	4,333 \pm 0,036 ^a	2,558 \pm 0,068 ^{cd}
1% [TEA][Cl]		3,252 \pm 0,004 ^c	2,478 \pm 0,045 ^{de}
2% [TEA][Cl]		2,445 \pm 0,026 ^e	2,735 \pm 0,046 ^b
1% [TBA][Cl]		2,002 \pm 0,028 ^f	2,640 \pm 0,059 ^{bc}
2% [TBA][Cl]		1,346 \pm 0,012 ^g	1,195 \pm 0,020 ⁱ
1% [TOA][Cl]		3,392 \pm 0,077 ^c	1,788 \pm 0,009 ^h
2% [TOA][Cl]		4,068 \pm 0,142 ^b	1,989 \pm 0,021 ^g
1% [EMIM][Cl]		2,716 \pm 0,026 ^d	2,252 \pm 0,034 ^f
2% [EMIM][Cl]		1,032 \pm 0,020 ^h	2,556 \pm 0,074 ^{cd}
1% [BMIM][Cl]		1,017 \pm 0,005 ^{hi}	2,932 \pm 0,025 ^a
2% [BMIM][Cl]		1,242 \pm 0,014 ^g	2,335 \pm 0,085 ^{ef}
1% [OMIM][Cl]		0,867 \pm 0,002 ⁱ	2,997 \pm 0,034 ^a
2% [OMIM][Cl]		0,586 \pm 0,005 ^j	2,245 \pm 0,074 ^f
Szczaw zwyczajny			
Kontrola	2,701 \pm 0,145 ^b	3,434 \pm 0,042 ^a	3,618 \pm 0,080 ^a
1% [TEA][Cl]		-	1,234 \pm 0,015 ^d
1% [TBA][Cl]		-	0,749 \pm 0,018 ^e
1% [TOA][Cl]		3,544 \pm 0,136 ^a	3,312 \pm 0,031 ^b
2% [TOA][Cl]		2,501 \pm 0,133 ^b	3,357 \pm 0,013 ^b
1% [EMIM][Cl]		-	1,915 \pm 0,316 ^c

Tabela 22. Zawartość chlorofilu całkowitego (chlorofil *a+b*) ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m.) w liściach żółtlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego opryskanych roztworami ILs o stężeniach 0, 1,0 i 2,0% (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych roślin w kolejnych terminach nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

	Dzień 0	Dzień 7	Dzień 14
Żółtlica drobnokwiatowa			
Kontrola	18,796 \pm 0,196 ^a	18,919 \pm 0,131 ^a	10,808 \pm 0,152 ^e
1% [TEA][Cl]		14,657 \pm 0,006 ^c	11,315 \pm 0,183 ^d
2% [TEA][Cl]		10,120 \pm 0,060 ^f	12,063 \pm 0,136 ^c
1% [TBA][Cl]		8,581 \pm 0,071 ^g	10,197 \pm 0,123 ^g
2% [TBA][Cl]		5,117 \pm 0,026 ^h	5,196 \pm 0,062 ⁱ
1% [TOA][Cl]		14,112 \pm 0,240 ^d	7,869 \pm 0,011 ^h
2% [TOA][Cl]		17,403 \pm 0,525 ^b	8,092 \pm 0,069 ^h
1% [EMIM][Cl]		11,482 \pm 0,140 ^e	10,731 \pm 0,144 ^e
2% [EMIM][Cl]		4,299 \pm 0,076 ⁱ	11,582 \pm 0,216 ^d
1% [BMIM][Cl]		4,393 \pm 0,044 ⁱ	13,134 \pm 0,066 ^b
2% [BMIM][Cl]		5,456 \pm 0,034 ^h	10,429 \pm 0,165 ^{ef}
1% [OMIM][Cl]		3,483 \pm 0,014 ^j	14,028 \pm 0,289 ^a
2% [OMIM][Cl]		2,352 \pm 0,010 ^k	9,971 \pm 0,053 ^g
Szczaw zwyczajny			
Kontrola	13,452 \pm 0,239 ^b	15,159 \pm 0,170 ^a	17,206 \pm 0,301 ^a
1% [TEA][Cl]		-	5,927 \pm 0,048 ^d
1% [TBA][Cl]		-	3,707 \pm 0,047 ^e
1% [TOA][Cl]		13,970 \pm 0,353 ^b	16,416 \pm 0,039 ^a
2% [TOA][Cl]		10,899 \pm 0,526 ^c	14,733 \pm 0,075 ^b
1% [EMIM][Cl]		-	9,419 \pm 0,361 ^c

Tabela 23. Zawartość karotenoidów ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m.) w liściach żótlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego opryskanych roztworami ILS o stężeniach 0, 1,0 i 2,0% (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych roślin w kolejnych terminach nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

	Dzień 0	Dzień 7	Dzień 14
Żótlica drobnokwiatowa			
Kontrola	3,723 \pm 0,031 ^a	3,594 \pm 0,018 ^a	2,221 \pm 0,028 ^c
1% [TEA][Cl]		2,773 \pm 0,003 ^c	2,203 \pm 0,024 ^c
2% [TEA][Cl]		1,892 \pm 0,012 ^e	2,247 \pm 0,012 ^c
1% [TBA][Cl]		1,581 \pm 0,009 ^f	1,819 \pm 0,020 ^e
2% [TBA][Cl]		0,914 \pm 0,153 ^{gh}	0,993 \pm 0,008 ^f
1% [TOA][Cl]		2,881 \pm 0,046 ^c	1,748 \pm 0,004 ^e
2% [TOA][Cl]		3,310 \pm 0,090 ^b	1,788 \pm 0,008 ^e
1% [EMIM][Cl]		2,095 \pm 0,021 ^d	2,035 \pm 0,017 ^d
2% [EMIM][Cl]		0,764 \pm 0,014 ^{hi}	2,230 \pm 0,028 ^c
1% [BMIM][Cl]		0,785 \pm 0,012 ^h	2,448 \pm 0,024 ^b
2% [BMIM][Cl]		1,026 \pm 0,008 ^g	1,959 \pm 0,047 ^d
1% [OMIM][Cl]		0,619 \pm 0,004 ⁱ	2,773 \pm 0,045 ^a
2% [OMIM][Cl]		0,380 \pm 0,001 ^j	1,938 \pm 0,092 ^d
Szczaw zwyczajny			
Kontrola	2,774 \pm 0,021 ^{ab}	2,864 \pm 0,037 ^a	3,332 \pm 0,041 ^a
1% [TEA][Cl]		-	1,185 \pm 0,008 ^d
1% [TBA][Cl]		-	0,772 \pm 0,005 ^e
1% [TOA][Cl]		2,671 \pm 0,036 ^b	3,364 \pm 0,002 ^a
2% [TOA][Cl]		2,266 \pm 0,107 ^c	3,013 \pm 0,075 ^b
1% [EMIM][Cl]		-	1,869 \pm 0,361 ^c

Na podstawie uzyskanych wartości poziomu barwników asymilacyjnych w liściach żótlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego obliczono również stosunek wartości chlorofilu *a* do chlorofilu *b* (Tabela 24) oraz chlorofilu całkowitego do karotenoidów (Tabela 25).

Tabela 24. Wartości liczbowe prezentujące stosunek zawartości chlorofil *a*/chlorofil *b* w liściach żótlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego przed i po oprysku roztworami ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych roślin w kolejnych terminach nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

	Dzień 0	Dzień 7	Dzień 14
Żótlica drobnokwiatowa			
Kontrola	3,541 \pm 0,059 ^a	3,367 \pm 0,006 ^{bc}	3,226 \pm 0,114 ^{de}
1% [TEA][Cl]		3,507 \pm 0,008 ^a	3,567 \pm 0,021 ^{abc}
2% [TEA][Cl]		3,140 \pm 0,040 ^e	3,410 \pm 0,027 ^{bcd}
1% [TBA][Cl]		3,288 \pm 0,040 ^{cd}	2,863 \pm 0,047 ^f
2% [TBA][Cl]		2,802 \pm 0,020 ^g	3,350 \pm 0,021 ^{cd}
1% [TOA][Cl]		3,160 \pm 0,027 ^e	3,400 \pm 0,018 ^{cd}
2% [TOA][Cl]		3,289 \pm 0,029 ^{cd}	3,069 \pm 0,010 ^{ef}
1% [EMIM][Cl]		3,227 \pm 0,013 ^{de}	3,765 \pm 0,011 ^a
2% [EMIM][Cl]		3,165 \pm 0,010 ^e	3,532 \pm 0,052 ^{abc}
1% [BMIM][Cl]		3,320 \pm 0,030 ^{bcd}	3,480 \pm 0,042 ^{bcd}
2% [BMIM][Cl]		3,393 \pm 0,064 ^b	3,472 \pm 0,213 ^{bcd}
1% [OMIM][Cl]		3,015 \pm 0,021 ^f	3,681 \pm 0,144 ^{ab}
2% [OMIM][Cl]		3,013 \pm 0,020 ^f	3,445 \pm 0,166 ^{bcd}
Szczaw zwyczajny			
Kontrola	3,986 \pm 0,187 ^a	3,415 \pm 0,005 ^b	3,757 \pm 0,016 ^a
1% [TEA][Cl]		-	3,804 \pm 0,031 ^a
1% [TBA][Cl]		-	3,952 \pm 0,059 ^a
1% [TOA][Cl]		2,983 \pm 0,052 ^c	3,957 \pm 0,037 ^a
2% [TOA][Cl]		3,358 \pm 0,036 ^b	3,388 \pm 0,016 ^b
1% [EMIM][Cl]		-	3,915 \pm 0,077 ^a

Tabela 25. Wartości liczbowe prezentujące stosunek zawartości chlorofil całkowity/ karotenoidy w liściach żótlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego przed i po oprysku roztworami ILs (średnia \pm odch. stand., $n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych roślin w kolejnych terminach nie różnią się między sobą statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

	Dzień 0	Dzień 7	Dzień 14
Żótlica drobnokwiatowa			
Kontrola	5,048 \pm 0,014 ^{bc}	5,265 \pm 0,013 ^{bc}	4,866 \pm 0,035 ^e
1% [TEA][Cl]		5,284 \pm 0,007 ^{bc}	5,137 \pm 0,028 ^{cd}
2% [TEA][Cl]		5,349 \pm 0,050 ^{bc}	5,367 \pm 0,035 ^b
1% [TBA][Cl]		5,427 \pm 0,050 ^{bc}	5,607 \pm 0,005 ^a
2% [TBA][Cl]		5,690 \pm 0,041 ^{ab}	5,233 \pm 0,020 ^{bcd}
1% [TOA][Cl]		4,899 \pm 0,036 ^c	4,502 \pm 0,006 ^f
2% [TOA][Cl]		5,257 \pm 0,043 ^{bc}	4,527 \pm 0,031 ^f
1% [EMIM][Cl]		5,481 \pm 0,061 ^{bc}	5,272 \pm 0,036 ^{bc}
2% [EMIM][Cl]		5,628 \pm 0,030 ^{ab}	5,193 \pm 0,033 ^{bcd}
1% [BMIM][Cl]		5,600 \pm 0,034 ^{ab}	5,366 \pm 0,058 ^b
2% [BMIM][Cl]		5,318 \pm 0,020 ^{bc}	5,325 \pm 0,065 ^{bc}
1% [OMIM][Cl]		5,624 \pm 0,014 ^{ab}	5,059 \pm 0,022 ^{de}
2% [OMIM][Cl]		6,186 \pm 0,035 ^a	5,153 \pm 0,225 ^{cd}
Szczaw zwyczajny			
Kontrola	4,850 \pm 0,113 ^b	5,292 \pm 0,019 ^a	5,163 \pm 0,036 ^a
1% [TEA][Cl]		-	5,004 \pm 0,031 ^b
1% [TBA][Cl]		-	4,802 \pm 0,033 ^c
1% [TOA][Cl]		5,230 \pm 0,097 ^a	4,881 \pm 0,011 ^{bc}
2% [TOA][Cl]		4,810 \pm 0,030 ^b	4,890 \pm 0,029 ^{bc}
1% [EMIM][Cl]		-	4,935 \pm 0,096 ^b

Opryskanie roślin żótlicy drobnokwiatowej oraz szczawiu zwyczajnego roztworami [TEA][Cl], [TBA][Cl], [EMIM][Cl], [BMIM][Cl] oraz [OMIM][Cl] powodowało spadek zawartości chlorofilu *a*, chlorofilu *b*, chlorofilu całkowitego oraz karotenoidów. W przypadku zastosowania imidazoliowych ILs obniżenie się zawartości barwników asymilacyjnych w liściach żótlicy drobnokwiatowej w 7 dniu po oprysku było stosunkowo większe, niż to, które stwierdzono w 14. dniu od przeprowadzenia oprysku. Bardziej widoczne zmiany zawartości barwników asymilacyjnych obserwowano w liściach szczawiu zwyczajnego. W roślinach, które nie uschły po zastosowaniu oprysków badanymi ILs, obserwowano spadek zawartości barwników asymilacyjnych nawet po zastosowaniu oprysku roztworami [TOA][Cl]. W przypadku obu roślin nie obserwowano natomiast większych zmian w wartościach liczbowych stosunku zawartości chlorofilu *a* do chlorofilu *b* oraz chlorofilu całkowitego do karotenoidów.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że badane związki zastosowane w postaci oprysków na rośliny żótlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego, z wyjątkiem [TOA][Cl], mają fitotoksyczny wpływ na te chwasty. Może to wskazywać na fakt, że związki te mogą być pobierane przez rośliny w podobny sposób jak herbicydy dolistne, przez powierzchnię blaszki liścia lub przez aparaty szparkowe [251]. Rośliną bardziej odporną na zastosowane ILs była żótlca drobnokwiatowa. Uzyskane wyniki badań są zgodne z rezultatami wcześniej prowadzonych badań własnych. Badając wpływ alkilimidazoliowych tetrafluoroboranów na rośliny żótlicy drobnokwiatowej, szczawiu zwyczajnego oraz komosy białej również wskazano na większą odporność żótlicy drobnokwiatowej na zastosowane ILs [21]. Obserwowane w przypadku obu chwastów zmiany zawartości barwników asymilacyjnych mogą wskazywać na fakt, że ILs powodują stres oksydacyjny i zaburzenia fizjologiczne w funkcjonowaniu tych roślin, podobnie jak to było obserwowane i omawiane po zastosowaniu badanych ILs w uprawie jęczmienia jarego. Podobne zmiany zawartości barwników asymilacyjnych pod wpływem różnych substancji chemicznych obserwowali również Stupnicka-Rodzinkiewicz i wsp. [252] badając wpływ różnych kwasów fenolowych na rośliny włośnicy zielonej, chwastnicy jednostronnej, żótlicy drobnokwiatowej oraz komosy białej oraz Yao i wsp [253] badając wpływ chlorków sodu i potasu na komosę białą. Klem i wsp. [254] obserwowali także spadek fluorescencji chlorofilu w roślinach maruny nadmorskiej, miotły zbożowej oraz gorczycy białej pod wpływem roztworów wodnych isoturonu.

Uzyskane w prezentowanych badaniach wyniki wskazują na wyraźną fitotoksyczność [TEA][Cl], [TBA][Cl], [EMIM][Cl], [BMIM][Cl] oraz [OMIM][Cl] w stosunku do chwastów – żótlicy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego. Dane te mogą zostać w przyszłości wykorzystane podczas projektowania nowych związków o właściwościach chwastobójczych lub związki te mogą być w przyszłości (po przeprowadzeniu szczegółowych badań) wykorzystane jako środki chwastobójcze.

WNIOSKI

Omówione w niniejszej pracy wyniki badań pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. Badane ciecze jonowe – chlorki tetraetyloamoniowy, tetrabutylamoniowy, 1-etylo-3-metyloimidazoliowy, 1-butylo-3-metyloimidazoliowy oraz 1-metylo-3-oktyloimidazoliowy wykazują fitotoksyczność oraz prowadzą do stresu oksydacyjnego u siewek jęczmienia jarego. Chlorek tetraoktyloamoniowy był jedynym związkiem, który nie wykazywał toksyczności dla siewek jęczmienia jarego.
2. Imidazoliowe ciecze jonowe wykazywały wyższą toksyczność w stosunku do siewek jęczmienia jarego, niż amoniowe ciecze jonowe.
3. Zaobserwowano następujący wpływ czynników na toksyczność ILs: zastosowane stężenie związku > rodzaj związku > czasu prowadzenia badań.
4. Obecność w glebie [TEA][Cl], [TBA][Cl], [EMIM][Cl], [BMIM][Cl] oraz [OMIM][Cl] powodowała spadek zawartości barwników asymilacyjnych w siewkach jęczmienia, który był dodatkowo skorelowany ze stężeniem związków.
5. Wprowadzenie do gleby [TEA][Cl], [TBA][Cl], [EMIM][Cl], [BMIM][Cl] oraz [OMIM][Cl] spowodowało wzrost zawartości proliny oraz nadtlenu wodoru w siewkach jęczmienia jarego, natomiast nie prowadziło do jednoznacznych zmian zawartości dialdehydu malonowego. Jednocześnie obserwowano spadek zawartości proliny, H₂O₂ oraz MDA w siewkach jęczmienia jarego w trakcie prowadzenia eksperymentu.
6. Stres oksydacyjny wywołany obecnością w podłożu [TEA][Cl], [TBA][Cl], [EMIM][Cl], [BMIM][Cl] oraz [OMIM][Cl] prowadził do wzrostu aktywności peroksydazy w jęczmieniu jarym. Nie stwierdzono natomiast jednoznacznych zmian aktywności katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej w siewkach tego zboża.
7. Chlorki tetraetyloamoniowy, tetrabutylamoniowy, 1-etylo-3-metyloimidazoliowy, 1-butylo-3-metyloimidazoliowy oraz 1-metylo-3-oktyloimidazoliowy zastosowane w postaci oprysków, wykazują toksyczność w stosunku do dwóch gatunków chwastów – żółticy drobnokwiatowej i szczawiu zwyczajnego, co wskazuje na fakt, że mogą one być wykorzystane przy projektowaniu nowych środków chwastobójczych.

LITERATURA

- [1]. S. Keskin, D. Kayrak-Talay, U. Akman, Ö. Hortaçsu. A review of ionic liquids towards supercritical fluid applications. *J. Supercrit. Fluids*. 4 (2007) 150-180.
- [2]. K.S. Egorova, V.A. Ananikov. Toxicity of ionic liquids: Eco(cyto)activity as complicated, but unavoidable parameter for task-specific optimization. *ChemSusChem* 7 (2014) 336-360.
- [3]. Y. Li, M. Yang, L. Liu, R. Zhang, Y. Cui, P. Dang, X. Ge, X. Chen. Effects of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride on the photosynthetic system and metabolism of maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 161 (2018) 648-654.
- [4]. M. Cvjetko Bubalo, K. Radošević, I. Radojčić Redovniković, J. Halambek, V.G. Srček. A brief overview of the potential environmental hazards of ionic liquids. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 99 (2014) 1-12.
- [5]. N.V. Plechkova, K.R. Seddon. Applications of ionic liquids in the chemical industry. *Chem. Soc. Rev.* 37 (2008) 123-150.
- [6]. N. Weyhing-Zerrer, T. Gundolf, R. Kalb, R. Oßmer, P. Rossmannith, P. Mester. Predictability of ionic liquid toxicity from a SAR study on different systematic levels of pathogenic bacteria. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 139 (2017) 394-403.
- [7]. E. Diaz, V.M. Monsalvo, J. Lopez, I.F. Mena, J. Palomar, J.J. Rodriguez, A.F. Mohedano. Assessment the ecotoxicity and inhibition of imidazolium ionic liquids by respiration inhibition assays. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 162 (2018) 29-34.
- [8]. Z. Chen, Q. Zhou, W. Guan, J. Wang, Y. Li, N. Yu, J. Wei. Effects of imidazolium-based ionic liquids with different anions on wheat seedlings. *Chemosphere* 194 (2018) 20-27.
- [9]. K.R. Seddon. Room-temperature ionic liquids: Neoteric solvents for clean catalysis. *Kinet. Catal.* 37 (1996) 693-697.
- [10]. P. Bałczewski, B. Bachowska, T. Białas, R. Biczak, W.M. Wieczorek, A. Balińska. Synthesis and phytotoxicity of new ionic liquids incorporating chiral cations and/or chiral anions. *J. Agric. Food. Chem.* 55 (2007) 1881-1892.
- [11]. W.L. Hough, M. Smiglak, H. Rodríguez, R. P. Swatloski, S.K. Spear, D.T. Daly, J. Pernak, J.E. Grisel, R.D. Carliss, M.D. Soutullo, J.H. Davis, Jr., R.D. Rogers. The third evolution of ionic liquids: active pharmaceutical ingredients. *New J. Chem.* 31 (2007) 1429-1436.
- [12]. J. Pernak, T. Rzemieniecki, K. Materna. O cieczach jonowych „w pigułce” (historia, właściwości i rozwój). *CHEMIK* 70, 9 (2016) 471-480.
- [13]. S.P.F. Costa, V.D. Justina, K. Bica, M. Vasiliou, P.C.A.G. Pinto, M.L.M.F.S. Saraiva. Automated evaluation of pharmaceutically active ionic liquids’(eco)toxicity through the inhibition of human carboxylesterase and *Vibrio fischeri*. *J. Hazard. Mater.* 265 (2014) 133-141.
- [14]. L.W. Hough-Troutman, M. Smiglak, S. Griffin, W.M. Reichert, I. Mirska, J. Jodynis-Liebert, T. Adamska, J. Nawrot, M. Stasiewicz, R.D. Rogers,

- J. Pernak. Ionic liquids with dual biological function: sweet and anti-microbial, hydrophobic quaternary ammonium-based salts. *New J. Chem.* 33 (2009) 26-33.
- [15]. T.L. Greaves, C.J. Drummond. Protic Ionic Liquids: Evolving Structure–Property Relationships and Expanding Applications. *Chem. Rev.* 108 (2008) 206-237.
- [16]. N. Ferlin, M. Courty, S. Gatard, M. Spulak, B. Quilty, I. Beadham, M. Ghavre, A. Haiß, K. Kümmerer, N. Gathergood, S. Bouquillon. Biomass derived ionic liquids: synthesis from natural organic acids, characterization, toxicity, biodegradation and use as solvents for catalytic hydrogenation processes. *Tetrahedron* 69 (2013) 6150-6161.
- [17]. M.I. Hossain, M. El-Harbawi, N.B.M. Alitheen, Y.A. Noaman, J.-M. Lévêque, Ch.-Y. Yin. Synthesis and anti-microbial potencies of 1-(2-hydroxyethyl)-3-alkyl-imidazolium chloride ionic liquids: Microbial viabilities at different ionic liquids concentrations. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 87 (2013) 65-69.
- [18]. O.B. Ghanem, M.I.A. Mutalib, J.-M. Lévêque, M. El-Harbawi. Development of QSAR model to predict the ecotoxicity of *Vibrio fischeri* using COSMO-RS descriptors. *Chemosphere* 170 (2017) 242-250.
- [19]. Y. Xia, D. Liu, Y. Dong, J. Chen, H. Liu. Effect of ionic liquids with different cations and anions on photosystem and cell structure of *Scenedesmus obliquus*. *Chemosphere* 195 (2018) 437-447.
- [20]. P.T. Anastas, J.B. Zimmerman. Design through the 12 principles green engineering. *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 94A-101A.
- [21]. R. Biczak, B. Pawłowska, J. Feder-Kubis. The phytotoxicity of ionic liquids from natural pool of (–)-menthol with tetrafluoroborate anion. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (2015) 11740-11754.
- [22]. J. Pernak, M. Niemczak, K. Materna, K. Żelechowski, K. Marcinkowska, T. Praczyk. Synthesis, properties and evaluation of biological activity of herbicidal ionic liquids with 4-(4-chloro-2-methylphenoxy)butanoate anion. *RSC Adv.* 6 (2016) 7330-7338.
- [23]. M. Messali, Z. Moussa, A.Y. Alzahrani, M.Y. El-Naggar, A.S. El Douhaibi, Z.M.A. Judeh, B. Hammouti. Synthesis, characterization and the antimicrobial activity of new eco-friendly ionic liquids. *Chemosphere* 91 (2013) 1627-1634.
- [24]. B. Peric, J. Sierra, E. Martí, R. Cruañas, M.A. Garau, J. Arning, U. Bottin-Weber, S. Stolte. (Eco)toxicity and biodegradability of selected protic and aprotic ionic liquids. *J. Hazard. Mater.* 261 (2013) 99-105.
- [25]. J. Salgado, J.J. Parajó, T. Teijeira, O. Cruz, J. Proupín, M. Villanueva, J.A. Rodríguez-Añón, P.V. Verdes, O. Reyes. New insight into the environmental impact of two imidazolium ionic liquids. Effects on seed germination and soil microbial activity. *Chemosphere* 185 (2017) 665-672.
- [26]. A. Syguda, A. Gielnik, A. Borkowski, M. Woźniak-Karczewska, A. Parus, A. Piechalak, A. Olejnik, R. Marecik, Ł. Ławniczak, Ł. Chrzanowski. Esterquat herbicidal ionic liquids (HILs) with two different herbicides: evaluation of activity and phytotoxicity. *New J. Chem.* 42 (2018) 9819-9827.

- [27]. F. Yu, Y. Zhou, K. Cao, W. Gao, B. Gao, L. Sun, S. Liu, L. Wang, Y. Ding. Phytotoxicity of ionic liquids with different structures on wheat seedlings and evaluation of their toxicity attenuation at the presence of modified biochar by adsorption effect. *Chemosphere* 196 (2018) 331-338.
- [28]. J. Pernak, A. Syguda, D. Janiszewska, K. Materna, T. Praczyk. Ionic liquids with herbicidal anions. *Tetrahedron* 67 (2011) 4838-4844.
- [29]. J.T. Polit, T. Praczyk, J. Pernak, Ł. Sobiech, E. Jakubiak, G. Skrzypczak. Inhibition of germination and early growth of rape seed (*Brassica napus* L.) by MCPA in anionic and ester form. *Acta Physiol Plant.* 36 (2014) 699-711.
- [30]. O.A. Cojocar, J.L. Shamshina, G. Gurau, A. Syguda, T. Praczyk, J. Pernak, R.D. Rogers. Ionic liquid forms of the herbicide dicamba with increased efficacy and reduced volatility. *Green Chem.* 15 (2013) 2110-2120.
- [31]. J. Pernak, R. Giszter, A. Biedziak, M. Niemczak, R. Olszewski, K. Marcinkowska, T. Praczyk. Alkyl(C16, C18, C22)- trimethylammonium-Based Herbicidal Ionic Liquids. *J. Agric. Food Chem.* 65 (2017) 260–269.
- [32]. T. Praczyk. Potencjał aplikacyjny herbicydowych cieczy jonowych. *CHEMIK* 70, 9 (2016) 485–490.
- [33]. K. Marcinkowska, T. Praczyk, M. Gawlak, M. Niemczak, J. Pernak. Efficacy of herbicidal ionic liquids and choline salt based on 2,4-D. *Crop Prot.* 98 (2017) 85-93.
- [34]. J. Pernak, K. Czerniak, M. Niemczak, Ł. Ławniczak, D.K. Kaczmarek, A. Borkowski, T. Praczyk. Bioherbicidal Ionic Liquids. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 6 (2018) 2741-2750.
- [35]. J. Pernak, B. Łęgosz, T. Klejdysz, K. Marcinkowska, J. Rogowski, D. Kurasiak-Popowska, K. Stuper-Szablewska. Ammonium bio-ionic liquids based on camelina oil as potential novel agrochemicals. *RSC Adv.* 8 (2018) 28676-28683.
- [36]. K. Marcinkowska, T. Praczyk, B. Łęgosz, A. Biedziak, J. Pernak. Bioionic Liquids as Adjuvants for Sulfonylurea Herbicides. *Weed Sci.* 66(3) (2018) 404-414.
- [37]. A. Piotrowska, A. Syguda, B. Wyrwas, Ł. Chrzanowski, T. Luckenbach, H.J. Heipieper. Effects of ammonium-based ionic liquids and 2,4-dichlorophenol on the phospholipid fatty acid composition of zebrafish embryos. *PLoS ONE* 13 (1) (2018) e0190779.
- [38]. T.P.T. Pham, C.-W. Cho, Y.-S. Yun. Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review. *Water Res.* 44 (2010) 352-372.
- [39]. S.P.M. Ventura, F.A. E Silva, A.M.M. Gonçalves, J.A. Pereira, F. Gonçalves, J.A.P. Coutinho. Ecotoxicity analysis of cholinium-based ionic liquids to *Vibrio fischeri* marine bacteria. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 102 (2014) 48-54.
- [40]. A. Latała, M. Nędzi, P. Stepnowski. Toxicity of imidazolium ionic liquids towards algae. Influence of salinity variations. *Green Chem.* 12 (2010) 60-64.
- [41]. S. Studzińska, B. Buszewski. Study of toxicity of imidazolium ionic liquids to watercress (*Lepidium sativum* L.). *Anal. Bioanal. Chem.* 393 (2009) 983-990.
- [42]. M. Petkovic, D.O. Hartmann, G. Adamová, K.R. Seddon, L.P.N. Rebelo, C. Silva Pereira. Unravelling the mechanism of toxicity of alkyltributyl-

- phosphonium chlorides in *Aspergillus nidulans* conidia. *New J. Chem.* 36 (2012) 56-63.
- [43]. H. Liu, J. Wu, X. Zhang, Y. Xia, Y. Li, S. Du. Enantioselective oxidative stress caused by chiral ionic liquids forms of 1-alkyl-3-methyl imidazolium tartrate on *Scenedesmus obliquus*. *Sci. Total. Environ.* 595 (2017) 819-827.
- [44]. Y. Xu, J. Wang, L. Zhu, Z. Du, J. Wang, K. Wei. Physiological and biochemical responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings to three imidazolium-based ionic liquids in soil. *Chemosphere* 191 (2018) 81-88.
- [45]. J. Pernak, J. Rogoża, I. Mirska. Synthesis and antimicrobial activities of new pyridinium and benzimidazolium chlorides. *Eur. J. Med. Chem.* 36 (2001) 313-320.
- [46]. J. Pernak, K. Sobaszekiewicz, I. Mirska. Anti-microbial activities of ionic liquids. *Green Chem.* 5 (2003) 52-56.
- [47]. J. Pernak, I. Goc, I. Mirska. Anti-microbial activities of protic ionic liquids with lactate anion. *Green Chem.* 6 (2004) 323-329.
- [48]. K.M. Docherty, C.F. Kulpa, Jr. Toxicity and antimicrobial activity of imidazolium and pyridinium ionic liquids. *Green Chem.* 7 (2005) 185-189.
- [49]. J. Pernak, J. Feder-Kubis. Synthesis and properties of chiral ammonium-based ionic liquids. *Chem. Eur. J.* 11 (2005) 4441-4449.
- [50]. M. Matzke, S. Stolte, K. Thiele, T. Juffernholz, J. Arning, J. Ranke, U. Welz-Biermann, B. Jastorff. The influence of anion species on the toxicity of 1-alkyl-3-methylimidazolium ionic liquids observed in an (eco)toxicological test battery. *Green Chem.* 9 (2007) 1198-1207.
- [51]. L. Myles, R. Gore, M. Špulák, N. Gathergood, S.J. Connon. Highly recyclable, imidazolium derived ionic liquids of low antimicrobial and antifungal toxicity: A new strategy for acid catalysis. *Green Chem.*, 2010, 12, 1157-1162.
- [52]. C. Pretti, M. Renzi, S.E. Focardi, A. Giovani, G. Monni, B. Melai, S. Rajamani, C. Chiappe. Acute toxicity and biodegradability of N-alkyl-N-methylmorpholinium and N-alkyl-DABCO based ionic liquids. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74 (2011) 748-753.
- [53]. N. Wood, J.L. Ferguson, H.Q.N. Gunaratne, K.R. Seddon, R. Goodacre, G.M. Stephens. Screening ionic liquids for use in biotransformations with whole microbial cells. *Green Chem.* 13 (2011) 1843-1851.
- [54]. D. Coleman, M. Špulák, M.T. Garcia, N. Gathergood. Antimicrobial toxicity studies of ionic liquids leading to a 'hit' MRSA selective antibacterial imidazolium salt. *Green Chem.* 14 (2012) 1350-1356.
- [55]. Y. Yu, Y. Nie. Toxicity and antimicrobial activities of ionic liquids with halogen anion. *J. Environ. Prot.* 2 (2011) 298-303.
- [56]. J. Suchodolski, J. Feder-Kubis, A. Krasowska. Antifungal activity of ionic liquids based on (-)-menthol: a mechanism study. *Microbiol. Res.* 197 (2017) 56-64.
- [57]. A. Busetti, D.E. Crawford, M.J. Earle, M.A. Gilea, B.F. Gilmore, S.P. Gorman, G. Laverty, A.F. Lowry, M. McLaughlin, K.R. Seddon. Antimicrobial and

- antibiofilm activities of 1-alkylquinolinium bromide ionic liquids. *Green Chem.*, 2010, 12, 420-425.
- [58]. A. Latała, M. Nędzi, P. Stepnowski. Toxicity of imidazolium and pyridinium based ionic liquids towards algae *Bacillaria paxillifer* (a microphytobenthic diatom) and *Geitlerinema amphibium* (a microphytobenthic blue green alga). *Green Chem.* 11 (2009) 1371-1376.
- [59]. M.G. Montalbán, G. Villora, P. Licence. Ecotoxicity assessment of dicationic versus monocationic ionic liquids as a more environmentally friendly alternative. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 150 (2018) 129-135.
- [60]. H. Chen, Y. Zou, L. Zhang, Y. Wen, W. Liu. Enantioselective toxicities of chiral ionic liquids 1-alkyl-3-methylimidazolium lactate to aquatic algae. *Aquat. Toxicol.* 154 (2014) 114-12.
- [61]. J.-M. Ma, L.-L. Cai, B.-J. Zhang, L.-W. Hu, X.-Y. Li, J.-J. Wang. Acute toxicity and effects of 1-alkyl-3-methylimidazolium bromide ionic liquids on green algae. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73 (2010) 1465-1469.
- [62]. H. Fan, M. Jin, H. Wang, Q. Xu, L. Xu, C. Wang, S. Du, H. Liu. Effect of differently methyl-substituted ionic liquids on *Scenedesmus obliquus* growth, photosynthesis, respiration, and ultrastructure. *Environ. Pollut.* 250 (2019) 155-165.
- [63]. K.S. Quraishi, M.A. Bustam, S. Krishnan, F.N. Aminuddin, N. Azeezah, N.A. Ghani, Y. Uemura, J.M. Lévêque. Ionic liquids toxicity on fresh water microalgae, *Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella vulgaris* & *Botryococcus braunii*; Selection criterion for use in a two-phase partitioning bioreactor (TPPBR). *Chemosphere* 184 (2017) 642-651.
- [64]. C.-W. Cho, T.P.T. Pham, Y.-C. Jeon, K. Vijayaraghavan, W.-S. Choe, Y.-S. Yun. Toxicity of imidazolium salt with anion bromide to a phytoplankton *Selenastrum capricornutum*: Effect of alkyl-chain length. *Chemosphere* 69 (2007) 1003-1007.
- [65]. C.-W. Cho, T.P.T. Pham, Y.-C. Jeon, Y.-S. Yun. Influence of anions on the toxic effects of ionic liquids to a phytoplankton *Selenastrum capricornutum*. *Green Chem.* 10 (2008) 67-72.
- [66]. C. Pretti, C. Chiappe, I. Baldetti, S. Brunini, G. Monni, L. Intorre. Acute toxicity of ionic liquids for three fresh water organisms: *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72 (2009) 1170-1176.
- [67]. R.N. Das, K. Roy. Predictive modeling studies for the ecotoxicity of ionic liquids towards the green algae *Scenedesmus vacuolatus*. *Chemosphere* 104 (2014) 170-176.
- [68]. S. Stolte, M. Matzke, J. Arning, A. Bösch, W.-R. Pitner, U. Welz-Biermann, B. Jastorff, J. Ranke. Effects of different head groups and functionalised sidechains on the aquatic toxicity of ionic liquids. *Green Chem.* 9 (2007) 1170-1179.
- [69]. K.J. Kulacki, G.A. Lamberti. Toxicity of imidazolium ionic liquids to freshwater algae. *Green Chem.* 10 (2008) 104-110.

- [70]. D.W. Sena, K.J. Kulacki, D.T. Chaloner, G.A. Lamberti. The role of the cell wall in the toxicity of ionic liquids to the alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Green Chem.* 12 (2010) 1066-1071.
- [71]. A. Latała, M. Nędzi, P. Stepnowski. Toxicity of imidazolium and pyridinium based ionic liquids towards algae. *Chlorella vulgaris*, *Oocystis submarina* (green algae) and *Cyclotella meneghiniana*, *Skeletonema marinoi* (diatoms). *Green Chem.* 11 (2009) 580-588.
- [72]. X.-Y. Deng, X.-L. Hu, J. Cheng, Z.-X. Ma, K. Gao. Growth inhibition and oxidative stress induced by 1-octyl-3-methylimidazolium bromide on the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 132 (2016) 170-177.
- [73]. X.-Y. Deng, D. Li, L. Wang, X.-L. Hu, J. Cheng, K. Gao. Potential toxicity of ionic liquid ([C12mim]BF₄) on the growth and biochemical characteristics of a marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Sci. Total Environ.* 586 (2017) 675-684.
- [74]. A. Latała, P. Stepnowski, M. Nędzi, W. Mroziak. Marine toxicity assessment of imidazolium ionic liquids: Acute effects on the Baltic algae *Oocystis submarina* and *Cyclotella meneghiniana*. *Aquat. Toxicol.* 73 (2005) 91-98.
- [75]. C. Zhang, L. Zhu, J. Wang, J. Wang, T. Zhou, Y. Xu, C. Cheng. The acute toxic effects of imidazolium-based ionic liquids with different alkyl-chain lengths and anions on zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 140 (2017) 235-240.
- [76]. C. Wang, Z. Wei, M. Feng, L. Wang, Z. Wang. Comparative antioxidant status in freshwater fish *Carasius auratus* exposed to eight imidazolium bromide ionic liquids: A combined experimental and theoretical study. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 102 (2014) 187-195.
- [77]. X.-Y. Li, S.-H. Zeng, X.-Y. Dong, J.-G. Ma, J.-J. Wang. Acute toxicity and responses of antioxidant systems to 1-methyl-3-octylimidazolium bromide at different developmental stages of goldfish. *Ecotoxicology* 21 (2012) 253-259.
- [78]. X.Y. Li, J. Zhou, M. Yu, J.J. Wang, Y.C. Pei. Toxic effects of 1-methyl-3-octylimidazolium bromide on the early embryonic development of the frog *Rana nigromaculata*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72 (2009) 552-556.
- [79]. D.R.M. Passino, S.B. Smith. Acute Bioassays and Hazard Evaluation of Representative Contaminants Detected in Great Lakes Fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 6 (1987) 901-907.
- [80]. EU, 10 March 2011. Environmental Hazards. http://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev01/English/04e_part4.pdf. (dostęp 12.11.2017).
- [81]. S.P.M. Ventura, A.M.M. Gonçalves, T. Sintra, J.A. Pereira, F. Gonçalves, J.A.P. Coutinho. Designing ionic liquids: the chemical structure role in the toxicity. *Ecotoxicology* 22 (2013) 1-12.
- [82]. D.J. Couling, R.J. Bernot, K.M. Docherty, J.K. Dixon, E.J. Maginn. Assessing the factors responsible for ionic liquid toxicity to aquatic organisms via quantitative structure–property relationship modeling. *Green Chem.* 8 (2006) 82-90.

- [83]. M. Dong, L. Zhu, S. Zhu, J. Wang, J. Wang, H. Xie, Z. Du. Toxic effects of 1-decyl-3-methylimidazolium bromide ionic liquid on the antioxidant enzyme system and DNA in zebrafish (*Danio rerio*) livers. *Chemosphere* 91 (2013) 1107-1112.
- [84]. M. Matzke, S. Stolte, J. Arning, U. Uebers, J. Filser. Ionic liquids in soil: effects of different anion species of imidazolium based ionic liquids on wheat (*Triticum aestivum*) as affected by different clay minerals and clay concentrations. *Ecotoxicology* 18 (2009) 197-203.
- [85]. W. Mroziak, A. Kotłowska, W. Kamysz, P. Stepnowski. Sorption of ionic liquids onto soils: Experimental and chemometric studies. *Chemosphere* 88 (2012) 1202-1207.
- [86]. P. Stepnowski, W. Mroziak, J. Nichthauser. Adsorption of alkylimidazolium and alkylpyridinium ionic liquids onto natural soils. *Environ. Sci. Technol.* 41 (2007) 511-516.
- [87]. S. Studzińska, T. Kowalkowski, B. Buszewski. Study of ionic liquid cations transport in soil. *J. Hazard. Mater.* 168 (2009) 1542–1547.
- [88]. A. Telesiński, M. Śnioszek, R. Biczak, B. Pawłowska. Response of soil phosphatases to three different ionic liquids with hexafluorophosphate anion. *J. Ecol. Eng.* 18, 2 (2017) 86-91.
- [89]. A. Telesiński, B. Pawłowska, J. Pater, R. Biczak, M. Śnioszek. The role of anion in the impact of tetraethylammonium salts on soil phosphatase activities. *Ecol. Quest.* 28 (2017) 47-54.
- [90]. A. Telesiński, B. Pawłowska, R. Biczak, J. Pater. Activity of dehydrogenases in clay soil exposed to quaternary ammonium salts with the iodine anion *Pol. J. Soil Sci.* 50 (2) (2017) 189-196.
- [91]. M. Matzke, S. Stolte, J. Arning, U. Uebers, J. Filser. Imidazolium based ionic liquids in soil: effects of the side chain length on wheat (*Triticum aestivum*) and cress (*Lepidium sativum*) as affected by different clays and organic matter. *Green Chem.* 10 (2008) 584-591.
- [92]. R. Biczak, B. Pawłowska, J. Feder-Kubis, A. Telesiński. Comparison of the effect of ionic liquids containing hexafluorophosphate and trifluoroacetate anions on the inhibition of growth and oxidative stress in spring barley and common radish. *Environ. Toxicol. Chem.* 36 (8) (2017) 2167-2177.
- [93]. R. Biczak. Changes in growth and physiological parameters of spring barley and common radish under the influence of 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium tetrafluoroborate. *Plant Physiol. Biochem.* 115 (2017) 259-268.
- [94]. B. Peric, J. Sierra, E. Martí, R. Cruañas, M.A. Garau. A comparative study of the terrestrial ecotoxicity of selected protic and aprotic ionic liquids. *Chemosphere* 108 (2014) 418-425.
- [95]. H. Liu, S. Zhang, X. Hu, C. Chen. Phytotoxicity and oxidative stress effect of 1-octyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid on rice seedlings. *Environ. Pollut.* 181 (2013) 242-249.

- [96]. H. Liu, S. Zhang, X. Zhang, C. Chen. Growth inhibition and effect on photosystem by three imidazolium ionic liquids in rice seedlings. *J. Hazard. Mater.* 286 (2015) 440-448.
- [97]. M. Cvjetko Bubalo, K. Hanousek, K. Radošević, V.G. Srček, T. Jakovljević, I. Radojčić Redovniković. Imidazolium based ionic liquids: Effect of different anions and alkyl chains lengths on the barley seedlings. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 101 (2014) 116-123.
- [98]. T. Liu, L. Zhu, H. Xie, J. Wang, J. Wang, F. Sun, F. Wang. Effects of the ionic liquid 1-octyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate on the growth of wheat seedlings. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21 (2014) 3936-3945.
- [99]. T. Liu, J. Wang, J. Wang, L. Zhu, J. Zhang, X. Sun. Growth and physiological and biochemical responses of wheat seedlings to imidazolium-based ionic liquids 1-octyl-3-methylimidazolium chloride and 1-oktyl-3-methylimidazolium bromide. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 96 (2016) 544-549.
- [100]. F. Yu, Y. Zhou, K. Cao, W. Gao, B. Gao, L. Sun, S. Liu, L. Wang, Y. Ding. Phytotoxicity of ionic liquids with different structures on wheat seedlings and evaluation of their toxicity attenuation at the presence of modified biochar by adsorption effect. *Chemosphere* 196 (2018) 331-338.
- [101]. B. Pawłowska, J. Feder-Kubis, A. Telesiński, R. Biczak. Biochemical Responses of Wheat Seedlings on the Introduction of Selected Chiral Ionic Liquids to the Soils. *J. Agric. Food Chem.* 67 (2019) 3086-3095.
- [102]. T. Liu, L. Zhu, J. Wang, J. Wang, H. Xie. The genotoxic and cytotoxic effects of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride in soil on *Vicia faba* seedlings. *J. Hazard. Mater.* 285 (2015) 27-36.
- [103]. T. Liu, L. Zhu, J. Wang, J. Wang, M. Tan. Phytotoxicity of imidazolium-based ILs with different anions in soil on *Vicia faba* seedlings and the influence of anions on toxicity. *Chemosphere* 145 (2016) 269-276.
- [104]. R. Biczak, B. Pawłowska, J. Feder-Kubis. The effect of ionic liquids with (-)-menthol derivative containing a chloride anion to weed, *Ecol. Chem. Eng. S* 24(4) (2017) 637-651.
- [105]. R. Biczak, B. Pawłowska, K. Tomczuk, J. Feder-Kubis. The effect of ionic liquids with the tetrafluoroborate anion on terrestrial plants, *Environ. Protect. Eng.* 44, 2 (2017) 41-52.
- [106]. R. Biczak, P. Bałczewski, B. Pawłowska, B. Bachowska, P. Rychter. Comparison of phytotoxicity of selected phosphonium ionic liquid. *Ecol. Chem. Eng. S* 21 (2014) 281-295.
- [107]. R. Biczak, B. Pawłowska, P. Bałczewski, P. Rychter. The role anion in the toxicity of imidazolium ionic liquids. *J. Hazard. Mater.* 274 (2014) 181-190.
- [108]. R. Biczak, B. Pawłowska, A. Telesiński, W. Ciesielski. The effect of the number of alkyl substituents on imidazolium ionic liquids phytotoxicity and oxidative stress in spring barley and common radish seedlings. *Chemosphere* 165 (2016) 519-528.
- [109]. B. Pawłowska, B. Bachowska, P. Bałczewski, R. Biczak. Badania fitotoksyczności fosfoniowych cieczy jonowych, *Prace Naukowe AJD*

- w *Częstochowie, Technika, Informatyka, Inżynieria Bezpieczeństwa* t.II (2014) 239-251.
- [110]. A. Telesiński, J. Nowak, B. Smolik, A. Dubowska, N. Skrzypiec. Effect of soil salinity on activity of antioxidant enzymes and content of ascorbic acid and phenols in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *J. Elementol.* 13(3) (2008) 401-409.
- [111]. R. Jbir-Koubaa, S. Charfeddine, W. Ellouz, M.N. Saidi, R. Gargouri-Bouزيد, O. Nouri-Ellouz. Investigation of the response to salinity and to oxidative stress of interspecific potato somatic hybrids grown in a greenhouse. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 120 (2015) 933-947.
- [112]. M. Rachoski, A. Gazquez, P. Calzadilla, R. Bezus, A. Rodriguez, O. Ruiz, A. Menendez, S. Maiale. Chlorophyll fluorescence and lipid peroxidation changes in rice somaclonal lines subjected to salt stress. *Acta Physiol. Plant.* 37 (2015) 117.
- [113]. L-S. Wang, L. Wang, L. Wang, G. Wang, Z.-H. Li, J.-J. Wang. Effect of 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate on the wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Environ. Toxicol.* 24 (2009) 296-303.
- [114]. M.M. Bailey, M.B. Townsend, P.L. Jernigan, J. Sturdivant, W.L. Hough-Troutman, J.F. Rasco, R.P. Swatloski, R.D. Rogers, R.D. Hood. Developmental toxicity assessment of the ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium chloride in CD-1 mice. *Green Chem.* 10 (2008) 1213-1217.
- [115]. G.A. Knudsen, Y. Cheng, R.K. Kuester, M.J. Hooth, I.G. Sipes. Effects of Dose and Route on the Disposition and Kinetics of 1-Butyl-1-methylpyrrolidinium Chloride in Male F-344 Rats. *Drug Metab. Dispos.* 37 (2009) 2171-2177.
- [116]. J. Jodynis-Liebert, M. Nowicki, T. Adamska, M. Ewertowska, M. Kujawska, E. Petzke, A. Konwerska, D. Ostalska-Nowicka, J. Pernak. Acute and subacute (28-Day) toxicity studies of ionic liquid, didecyldimethylammonium acesulfamate, in rats. *Drug Chem. Toxicol.* 32 (2009) 395-404.
- [117]. J. Jodynis-Liebert, M. Nowicki, M. Murias, T. Adamska, M. Ewertowska, M. Kujawska, H. Piotrowska, A. Konwerska, D. Ostalska-Nowicka, J. Pernak. Cytotoxicity, acute and subchronic toxicity of ionic liquid, dodecyldimethylammonium saccharinate, in rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 57 (2010) 266-273.
- [118]. J. Ranke, M. Cox, A. Müller, C. Schmidt, D. Beyersmann. Sorption, cellular distribution and toxicity of imidazolium ionic liquids in mammalian cells - Influence of lipophilicity. *Toxicol. Environ. Chem.* 88 (2006) 273-285.
- [119]. S. Stolte, J. Arning, U. Bottin-Weber, M. Matzke, F. Stock, K. Thiele, M. Uerdingen, U. Welz-Biermann, B. Jastorff, Johannes Ranke. Anion effects on the cytotoxicity of ionic liquids. *Green Chem.* 8 (2006) 621-629.
- [120]. X. Wang, C.A. Ohlin, Q. Lu, Z. Fei, J. Hub. P.J. Dyson. Cytotoxicity of ionic liquids and precursor compounds towards human cell line HeLa. *Green Chem.* 9 (2007) 1191-1197.
- [121]. V. Kumar, S.V. Malhotra. Study on the potential anti-cancer activity of phosphonium and ammonium-based ionic liquids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19 (2009) 4643-4646.

- [122]. H. Gabryś, A. Kasperska-Lewak, J. Kopcewicz, M. Krzymowska, S. Lewak, A. Rychter, Z. Starck, K. Strzałka, M. Szymańska, A. Tretyn. Pod redakcją J. Kopcewicz, S. Lewak. Fizjologia roślin. PWN, Warszawa 2016.
- [123]. I.B. Rejeb, V. Pastor, B. Mauch-Mani. Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. *Plants* 3 (2014) 458-475.
- [124]. M. Achrem, L. Skuza, A. Kalinka, I. Szućko, E. Filip, R. Słomska-Walkowiak, S.M. Rogalska. Role of epigenetic mechanisms in plant response to low temperature. *Acta Biol. Cracov., Ser. Bot.* 54(1) (2012) 7-15.
- [125]. N. Sewelam, Y. Oshima, N. Mitsuda, M. Ohme-Takagi. A step towards understanding plant responses to multiple environmental stresses: a genome-wide study. *Plant, Cell Environ.* 37 (2014) 2024-2035.
- [126]. M.A. Ahanger, N.A. Akram, M. Ashraf, M.N. Alyemeni, L. Wijaya, P. Ahmad. Plant responses to environmental stresses – from gene to biotechnology. *AoB PLANTS* 9 (2017) plx025.
- [127]. M. Gürsoy, A. Balkan, H. Ulukan. Ecophysiological responses to stresses in plant: A general approach. *Pak. J. Biol. Sci.* 15(11) (2012) 506-516.
- [128]. G. Wu, C. Zhang, L.-Y. Chu, H.-B. Shao. Responses of higher plants to abiotic stresses and agricultural sustainable development. *J. Plant Interact.* 2(3) (2007) 135-147.
- [129]. R. Rosalie, J. Joas, C. Deytieux-Belleau, E. Vulcain, B. Payet, L. Dufossé, M. Léchaudel. Antioxidant and enzymatic responses to oxidative stress induced by pre-harvest water supply reduction and ripening on mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Cogshall') in relation to carotenoid content. *J. Plant. Physiol.* 184 (2015) 68-78.
- [130]. E. Anjaneyulu, P.S. Reddy, M.S. Sunita, P.B.K. Kishor, B. Meriga. Salt tolerance and activity of antioxidative enzymes of transgenic finger millet overexpressing a vacuolar H⁺-pyrophosphatase gene (SbVPPase) from *Sorghum bicolor*. *J. Plant. Physiol.* 171 (2014) 789-798.
- [131]. A. Król, R. Amarowicz, S. Weidner. The effects of cold stress on the phenolic compounds and antioxidant capacity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. *J. Plant Physiol.* 189 (2015) 97-104.
- [132]. R. Biczak, B. Pawłowska, J. Feder-Kubis. Inhibicja wzrostu i stres oksydacyjny w roślinach pod wpływem chiralnej imidazoliowej cieczy jonowej z anionem tetrafluoroboranowym. *Chem. Environ. Biotechnol.* 19 (2016) 35-45.
- [133]. U. Krasuska, A. Gniazdowska, R. Bogatek. Rola ROS w fizjologii nasion. *Kosmos* 60 (1-2) (2011) 113-128.
- [134]. B. Nowicka, J. Kruk. Reaktywne formy tlenu w roślinach – więcej niż trucizna. *Kosmos* 62 (4) (2013) 583-596.
- [135]. R. Szymańska, K. Strzałka. Reaktywne formy tlenu w roślinach – powstawanie, dezaktywacja i rola w przekazywaniu sygnału. *Post. Bioch.* 56 (2) (2010) 182-190.
- [136]. V. Demidchik. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environ. Exp. Bot.* 109 (2015) 212-228.

- [137]. A. Małecka, B. Tomaszewska. Reaktywne formy tlenu w komórkach roślinnych i enzymatyczne systemy obronne. *Post. Biol. Komórki* 32 (2) (2005) 311-325.
- [138]. R. Rucińska-Sobkowiak. Stres oksydacyjny wywołany działaniem metali ciężkich na rośliny. *Post. Bioch.* 56 (2) (2010) 191-200.
- [139]. G. Bartosz. Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2013.
- [140]. G. Noctor, C. Lelarge-Trouverie, A. Mhamdi. The metabolomics of oxidative stress. *Phytochemistry* 112 (2015) 33–53.
- [141]. www.dwmed.pl; 9.09.2018
- [142]. M.H. Kalaji, T. Łoboda. Fluorescencja chlorofilu w badaniach stanu fizjologicznego roślin. SGGW, Warszawa 2010.
- [143]. U. Krasuska, P. Staszek, A. Antosik, A. Gniazdowska. Reaktywne formy tlenu w oddziaływaniach allelopatycznych. *Kosmos* 61 (1) (2014) 95-106.
- [144]. A. Gniazdowska-Piekarska. Fizjologia roślin. Stres oksydacyjny. Rola chloroplastów, peroksysomów i mitochondriów w produkcji ROS. Kontrola stężenia ROS w komórkach roślinnych https://e.sggw.pl/file.php/432/skrypty/stres_oksydacyjny_skrypt.pdf. Dostęp: 29.06.2018.
- [145]. M. A. Gururani, J. Venkatesh, L.-S. Phan Tran. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Mol. Plant* 8 (2015) 1304–1320.
- [146]. D. Inzé, M. Van Montagu. Oxidative stress in plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 6 (1995) 153-158.
- [147]. K.-H. Baek, D.Z. Skinner. Production of reactive oxygen species by freezing stress and the protective roles of antioxidant enzymes in plants. *J. Agric. Chem. Environ.* 1 (2012) 34-40.
- [148]. D. Ścibior, H. Czeczot. Katalaza – budowa, właściwości, funkcje. *Postepy Hig Med Dosw.* 60 (2006) 170-180.
- [149]. A. Romanowicz, A. Krzepińko. Porównanie aktywności katalazy w różnych organach maliny powtarzającej *Rubus idaeus* L. odmiany Polana oraz w glebie pod jej uprawą, oznaczanej metodą wolumetryczną. *Pol. J. Agron.* 15 (2013) 49-53.
- [150]. G. Noctor, C. H. Foyer. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49 (1998) 249-279.
- [151]. W.G. Doorna, S. Ketsa. Cross reactivity between ascorbate peroxidase and phenol (guaiacol) peroxidase. *Postharvest Biol. Technol.* 95 (2014) 64-69.
- [152]. A.H. Millar, D.A. Day. Nitric oxide inhibits the cytochrome oxidase but not the alternative oxidase of plant mitochondria. *FEBS Lett.* 398 (1996) 155-158.
- [153]. I. M. Juszczuk, A.M. Rychter. Regulacja aktywności oksydazy alternatywnej. *Post. Bioch.* 47(4) (2001) 318-327.
- [154]. S. Weidner. wykorzystanie analiz proteomicznych do wyjaśnienia biologicznych podstaw tolerancji stresów u roślin. *Acta Sci. Pol., Biotechnologia* 14 (2) (2015) 43-56.
- [155]. <http://uzori-dereva.ru>. Dostęp 7.10.2018

- [156]. A. Murkowski. Ocena wrażliwości roślin uprawnych na wybrane stropy środowiska przy użyciu metody fluorescencyjnej. *Inżynieria rolnicza*. 9(4) (2005) 37-45.
- [157]. R. Matysiak, G. Lorenc-Plucińska. Cykl ksantofilowy w warunkach stresu abiotycznego. *Post. Biol. Komórki*. 27(1) (2000) 17-29.
- [158]. A. Bajguza, I. Ciereszko. Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu. *Rośliny i grzyby – badania środowiskowe i laboratoryjne*. Białystok, Agencja Wydawnicza EkoPress. 2016.
- [159]. J. Ostrowski, L. Łabędzki, W. Kowalik, E. Kanecka-Geszke, W. Kasperska-Wołowicz, K. Smarzyńska, E. Tusiński. Atlas niedoborów wodnych roślin uprawnych i użytków zielonych w Polsce. Falenty–Warszawa, Wyd. IMUZ, 2008.
- [160]. K. Chmura, E. Chylińska, Z. Dmowski, L. Nowak. Rola czynnika wodnego w kształtowaniu plonu wybranych roślin polowych. *Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich*. 9 (2009) 33-44.
- [161]. Z. Stępniewska, G. Przywara. Reakcja roślin w warunkach anaerobiozy. *Acta Agrophysica. Rozprawy i Monografie*. Lublin 7 (2004).
- [162]. R. Nazar, N. Iqbal, A. Masood, S. Syeed, N. A. Khan. Understanding the significance of sulfur in improving salinity tolerance in plants. *Environ. Exp. Bot.* 70 (2011) 80-87.
- [163]. G. Manchanda, N. Garg. Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiol. Plant* 30 (2008) 595-618.
- [164]. R. Jbir-Koubaa, S. Charfeddine, W. Ellouz, M.N. Saidi, R. Gargouri-Bouزيد, O. Nouri-Ellouz. Investigation of the response to salinity and to oxidative stress of interspecific potato somatic hybrids grown in a greenhouse. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 120 (2015) 933-947.
- [165]. Z. Gengmao, H. Yu, S. Xing, L. Shihui, S. Quanmei, W. Changhai. Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. *Ind. Crops Prod.* 64 (2015) 175-181.
- [166]. A. Oukarroum, F. Bussotti, V. Goltsev, H.M. Kalaji. Correlation between reactive oxygen species production and photochemistry of photosystems I and II in *Lemna gibba* L. plants under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 109 (2015) 80-88.
- [167]. S. Chawla, S. Jain, V. Jain. Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 22(1) (2013) 27-34.
- [168]. P. Parihar, S. Singh, R. Singh, V.P. Singh, S.M. Prasad. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (2015) 4056-4075.
- [169]. F. Islam, B. Ali, J. Wang, M.A. Farooq, R.A. Gill, S. Ali, D. Wang, W. Zhou. Combined herbicide and saline stress differentially modulates hormonal regulation and antioxidant defense system in *Oryza sativa* cultivars. *Plant Physiol. Biochem.* 107 (2016) 82-95.
- [170]. M. Kumar, R. Kumar, V. Jain, S. Jain. Differential behavior of the antioxidant system in response to salinity induced oxidative stress in salt-tolerant and salt-

- sensitive cultivars of *Brassica juncea* L. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 13 (2018) 12-19.
- [171]. H. Vaidyanathan, P. Sivakumar, R. Chakrabarty, G. Thomas. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) – differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. *Plant Sci.* 165 (2003) 1411-1418.
- [172]. S. Farhangi-Abriz, S. Torabian. Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 137 (2017) 64-70.
- [173]. X.S. Wang, J.G. Han. Changes in proline content, activity, and active isoforms of antioxidative enzymes in two alfalfa cultivars under salt stress. *Agr. Sci. China* 8, (2009) 431-440.
- [174]. M. Baciak, K. Warmiński, A. Bęś. Oddziaływanie wybranych gazowych zanieczyszczeń powietrza na rośliny drzewiaste. *Leśne Prace Badawcze* 76 (4) 2015, 401-409.
- [175]. J. Rakowska, K. Radwan, Z. Ślosorz, E. Pietraszek, M. Łudzik, P. Suchorab. Usuwanie substancji ropopochodnych z dróg i gruntów. Wydawnictwo Centrum Naukowo-Badawczego Ochrony Przeciwpożarowej im. Józefa Tuliszkowskiego Państwowego Instytutu Badawczego, Józefów 2012.
- [176]. M. Głodowska, A. Gałązka. Intensyfikacja rolnictwa a środowisko naturalne. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 592 (2018) 3-13.
- [177]. A. Ociepa-Kubicka, E. Ociepa. Toksyczne oddziaływanie metali ciężkich na rośliny, zwierzęta i ludzi. *Inż. Ochr. Środ.* 15 (2) (2012) 169-180.
- [178]. A. Petryk, P. Guzdek, P. Petryk. Problematyka zanieczyszczenia roślinności odłogów metalami ciężkimi w sołectwach Psary i Płoki. *Inż. Ekolog.* 18(4) (2017) 125-132.
- [179]. J. Sławiński, E. Gołąbek, G. Senderak. Wpływ zanieczyszczeń komunikacyjnych na glebę i uprawną roślinność przydrożną. *Inż. Ekolog.* 40 (2014) 137-144.
- [180]. M. Chai, F. Shi, R. Li, G. Qiu, F. Liu, L. Liu. Growth and physiological responses to copper stress in a halophyte *Spartina alterniflora* (Poaceae). *Acta Physiol Plant* 36 (2014) 745-754.
- [181]. T. Ma, P. Christie, Y. Teng, Y. Luo. Rape (*Brassica chinensis* L.) seed germination, seedling growth, and physiology in soil polluted with di-n-butyl phthalate and bis(2-ethylhexyl) phthalate. *Environ Sci. Pollut. Res.* 20 (2013) 5289-5298.
- [182]. J.-J. Zhu, Y.-R. Li, J.-X. Liao. Involvement of anthocyanins in the resistance to chilling-induced oxidative stress in *Saccharum officinarum* L. leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 73 (2013) 427-433.
- [183]. B. Smolik. Reakcja wybranych odmian żyta ozimego na stres wywołany różnymi czynnikami abiotycznymi. *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin. Agric., Aliment., Pisc., Zootech.* 293 (21) (2012) 119-128.

- [184]. Z. Tang, Y. Kang, P. Wang, F.-J. Zhao. Phytotoxicity and detoxification mechanism differ among inorganic and methylated arsenic species in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Soil* 401 (2016) 243-257.
- [185]. M.K. Islam, M.S. Khanam, S.Y. Lee, I. Alam, M.R. Huh. The interaction of arsenic (As) and chromium (Cr) influences growth and antioxidant status in tossa jute (*Corchorus olitorius*). *POJ* 7 (2014) 499-509.
- [186]. K. Grygiel, J. Sadowski, T. Snopczyński, A. Wysocki. Pozostałości herbicydów w płodach rolnych i glebie. *J. Ecol. Health* 16(4) (2012) 159-163.
- [187]. R. Nowak, M. Włodarczyk-Makuła, E. Mamzer. Ryzyko środowiskowe i zdrowotne wynikające ze stosowania środków ochrony roślin. *Zeszyty naukowe WSZOP* 1(11) (2015) 51-63.
- [188]. R. Matuszak-Slamani, M. Włodarczyk. Wpływ formy użytkowej chlomazonu na wzrost roślin rzepaku. *Acta Agroph.* 24(3) (2017) 475-484.
- [189]. R. Biczak, B. Pawłowska. Effect of the quaternary ammonium salts, tetraethylammonium halide on *Rumex acetosa* L., *Chenopodium album* L. and *Galinsoga parviflora* Cav.: inhibition of growth and changes in assimilation pigments content in plants. *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., Agric., Aliment., Pisc., Zootech.* 328(39)3 (2016) 35-52.
- [190]. J. Žaltauskaitė, G. Kišonaitė. The effects of phenoxy herbicide MCPA on non-target vegetation in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) culture. *BIOLOGIJA*. 60(3) (2014) 148-154.
- [191]. M. Kumar, C.R.K. Reddy, B. Jha. The ameliorating effect of Acadian marine plant extract against ionic liquids-induced oxidative stress and DNA damage in marine macroalga *Ulva lactuca*. *J. Appl. Phycol.* 25 (2013) 369-378.
- [192]. B. Pawłowska, A. Telesiński, M. Płatkowski, M. Stręk, M. Śnioszek, R. Biczak. Reaction of spring barley and common radish on the introduction of ionic liquids containing asymmetric cations to the soil. *J. Agric. Food Chem.* 65 (2017) 4562-4571.
- [193]. K. Gierat. Cechy botaniczne i fizjologia rozwoju jęczmienia. W: Jęczmień [praca zbiorowa], PWRiL, Warszawa 1973, s. 21–25.
- [194]. H. Gąsiorowski (pod red.): Jęczmień. Chemia i technologia. PWRiL, Poznań 1997.
- [195]. A.A.M. Andersson, A.M. Lampi, L. Nyström, V. Piironen, L. Li, J.L. Ward, K. Gebruers, C.M. Courtin, J.A. Delcour, D. Boros, A. Fraś, W. Dynkowska, M. Rakszegi, Z. Bedő, P.R. Sherry, P. Åman Phytochemical and dietary fiber components in barley varieties in the healthgrain diversity screen. *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 9767-7996.
- [196]. K. Kawka, M.K. Lemieszek. Prozdrowotne właściwości młodego jęczmienia. *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu* 23(1) (2017) 7-12.
- [197]. Roczniki statystyczne rolnictwa 2017. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/roczniki-statystyczne/roczniki-statystyczne/rocznik-statystyczny-rolnictwa-2017,6,11.html> (18.02.2019)

- [198]. K.B. Yang, S.G. Zhao, Y.H. Liu, E.X. Hu, B.X. Liu. Tetraethylammonium inhibits glioma cells via increasing production of intracellular reactive oxygen species. *Chemotherapy* 55(5) (2009) 372-380.
- [199]. H.A. Dieck, R.M. Laine, R.F. Heck. Low-pressure, palladium-catalyzed N,N'-diarylurea synthesis from nitro compounds, amines, and carbon monoxide. *J. Org. Chem.* 40 (1975) 2819-2822.
- [200]. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/t2265?lang=pl®ion=PL>; (9.04.2018).
- [201]. T.T. Kantzas, O.A. Semenikhin. Formation of polymer nanowires through electropolymerization of polybithiophene from mixed electrolyte solutions of tetrabutylammonium hexafluorophosphate and tetrabutylammonium chloride. *Electrochim. Acta* 56 (2011) 3474-3480.
- [202]. J. Lenik, R. Łyszczek. Functionalized β -cyclodextrin based potentiometric sensor for naproxen determination. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 61 (2016) 149-57.
- [203]. J.-K. Chang, S.-Y. Chen, W.-T. Tsai, M.-J. Deng, I.-W. Sun. Electrodeposition of aluminum on magnesium alloy in aluminum chloride (AlCl₃)–1-ethyl-3-methyl-imidazolium chloride (EMIC) ionic liquid and its corrosion behavior. *Electrochemical Communications* 9(7) (2007) 1602-1606.
- [204]. S.I. Hsiu, J.F. Huang, I.-W. Sun, C.H. Yuan, J.antaie Shiea. Lewis acidity dependency of the electrochemical window of zinc chloride-1-ethyl-3-methyl-imidazolium chloride ionic liquids. *Electrochim. Acta* 47(27) (2002) 4367-4372.
- [205]. P.-Y. Chen, I.-W. Sun. Electrochemistry of Cd (II) in the basic 1-ethyl-3-methylimidazolium chloride/tetrafluoroborate room temperature molten salt. *Electrochim. Acta* 45(19) (2000) 3163-3170.
- [206]. C. Croitoru, S. Patachia, A. Lunguleas. A mild method of wood impregnation with biopolymers and resins using 1-ethyl-3-methylimidazolium chloride as carrier. *Chem. Eng. Res. Des.* 93 (2015) 257–268.
- [207]. Y. Chauvin, H. Olivier, A. Hirschauer. Alkylation of isobutane with 2-butene using 1-butyl-3-methylimidazolium chloride-aluminum chloride molten salts as catalyts. *J. Mol. Catal.* 92(2) (1994) 155-165.
- [208]. S.S. Mohtar, T.N.Z. Tengku Malim Busu, A.M. Md Noor, N. Shaari, N.A. Yusoff, M.A. Bustam Khalil, M.I. Abdul Mutalib, H.B. Mat. Extraction and characterization of lignin from oil palm biomass via ionic liquid dissolution and non-toxic aluminium potassium sulfate dodecahydrate precipitation processes. *Bioresour. Technol.* 192 (2015) 212-218.
- [209]. Q.B. Zhang, C. Yang, Y.X. Hua, Y. Li, P. Dong. Electrochemical preparation of nanostructured lanthanum using lanthanum chloride as a precursor in 1-butyl-3-methylimidazolium dicyanamide ionic liquid. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 14 17(6) (2015) 4701-4707.
- [210]. J.-A. Chun, J.-W. Lee, Y.-B. Yi, S.-S. Hong, Ch.-H. Chung. Catalytic production of hydroxymethylfurfural from sucrose using 1-methyl-3-octylimidazolium chloride ionic liquid. *Korean J. Chem. Eng.* 27(3) (2010) 930-935.

- [211]. N. Žilková, A. Zukal, J. Čejka. Synthesis of organized mesoporous alumina templated with ionic liquids. *Microporous Mesoporous Mater.* 95(1) (2006) 176-179.
- [212]. OECD/OCDE 208 Guidelines for the testing of chemical. Terrestrial plant: seedling test: seedlings emergence and seedling growth test. 2006.
- [213]. PN-EN ISO 11269-2. Jakość gleby. Oznaczanie wpływu zanieczyszczeń na florę glebową. Część 2. Wpływ zanieczyszczeń gleby na wschody i wczesny wzrost roślin wyższych.
- [214]. I. Kowalska. The content of selected components of spinach (*Spinacia oleracea* L.) grown at varying levels of calcium. *Rocz. Akad. Roln., Poznań*, (2004) 105-110.
- [215]. R. Oren, K.S. Werk, N. Buchmann, R. Zimmermann. Chlorophyll-nutrient relationships identify nutritionally caused decline in *Picea abies* stands. *Can. J. For. Res.* 23 (1993) 1187-1195.
- [216]. D.M. Hodges, J.M. DeLong, Ch.F. Forney, R.K. Prange. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207 (1999) 604-611.
- [217]. H.P. Singh, D.R. Batish, R.K. Kohli, K. Arora. Arsenic-induced root growth inhibition in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) is due to oxidative stress resulting from enhanced lipid peroxidation. *Plant Growth Regul.* 53 (2007) 65-73.
- [218]. L.S. Bates, R.P. Waldren, I.D. Teare. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39 (1973) 205-207.
- [219]. M.M. Bradford. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72 (1976) 248-254.
- [220]. M. Kar, D. Mishra. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiol.* 57 (1976) 315-319.
- [221]. N.A. Abassi, M.M. Kushad, A.G. Endress. Active oxygen-scavenging enzymes activities in developing apple flowers and fruits. *Sci. Hortic.* 74 (1998) 183-194.
- [222]. C.N. Giannopolitis, S.K. Ries. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59 (1977) 309-314.
- [223]. A. Tot, M. Vraneša, I. Maksimović, M. Putnik-Delić, M. Daničić, S. Belić, S. Gadžurić. The effect of imidazolium based ionic liquids on wheat and barley germination and growth: Influence of length and oxygen functionalization of alkyl side chain. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 147 (2018) 401-406.
- [224]. J. Lynch. Root Architecture and Plant Productivity. *Plant Physiol.* 109 (1995) 7-13.
- [225]. A. Hodge, G. Berta, C. Doussan, F. Merchan, M. Crespi. Plant root growth, architecture and function. *Plant Soil* 321 (2009) 153-187.
- [226]. Inderjit, S.O. Duke. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta* 217(4) (2003) 529-539.

- [227]. A. Tot, M. Vraneš, I. Maksimović, M. Putnik-Delić, M. Daničić, S. Gadžurić. Evaluation of the impact of different alkyl length and type of substituent in imidazolium ionic liquids on cucumber germination, growth and oxidative stress. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25 (2018) 35594-35601.
- [228]. B. Pawłowska, R. Biczak. Evaluation of the effect of tetraethylammonium bromide and chloride on the growth and development of terrestrial plants. *Chemosphere* 149 (2016) 24-33.
- [229]. A. Telesiński, N. Sułkowska. Dynamika zanikania 1-alkilo-3-metyloimidazoliowych cieczy jonowych w aspekcie ich oddziaływania na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie. *Chem. Environ. Biotechnol.* 19 (2016) 87-92.
- [230]. R. Biczak, M. Śnioszek, A. Telesiński, B. Pawłowska. Growth inhibition and efficiency of the antioxidant system in spring barley and common radish grown on soil polluted ionic liquids with iodide anions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 139 (2017) 463-471.
- [231]. B. Pawłowska, R. Biczak. Wpływ tetrafluoroboranu amonu i heksafluorofosforanu amonu na wybrane gatunki chwastów – inhibicja wzrostu i zmiany zawartości barwników asymilacyjnych w roślinach. *Chem. Environ. Biotechnol.* 19 (2016) 19-27.
- [232]. A. Oukarrouma, F. Bussotti, V. Goltsev, H.M. Kalaji. Correlation between reactive oxygen species production and photochemistry of photosystems I and II in *Lemna gibba* L. plants under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 109 (2015) 80–88.
- [233]. R. Biczak. Quaternary ammonium salts with tetrafluoroborate anion: Phytotoxicity and oxidative stress in terrestrial plants. *J. Hazard. Mater.* 304 (2016) 173-185.
- [234]. B. Zhang, X. Li, D. Chen, J. Wang. Effects of 1-octyl-3-methylimidazolium bromide on the antioxidant system of *Lemna minor*. *Protoplasma* 250 (2013) 103-110.
- [235]. X. Wang, B.S. Dinler, M. Vignjevic, S. Jacobsen, B. Wollenweber. Physiological and proteome studies of responses to heat stress during grain filling in contrasting wheat cultivars. *Plant Sci.* 230 (2015) 33-50.
- [236]. C. Arias-Baldrich, N. Bosch, D. Begines, A.B. Ferial, J.A. Monreal, S. García-Mauriño. Proline synthesis in barley under iron deficiency and salinity. *J. Plant Physiol.* 183 (2015) 121-129.
- [237]. E. Pätsikkä, M. Kairavuo, F. Šeršen, E.-M. Aro, E. Tyystjärvi. Excess copper predisposes photosystem II to photoinhibition in vivo by outcompeting iron and causing decrease in leaf chlorophyll1. *Plant Physiol.* 129 (2002) 1359-1367.
- [238]. E. Grosicka-Maciąg. Biologiczne skutki stresu oksydacyjnego wywołanego działaniem pestycydów. *Postępy Hig. Med. Dosw.* 65 (2011) 357-366.
- [239]. A. Rombel-Bryzek, I. Pisarek. Wpływ kwasów huminowych na aktywność metaboliczną buraka cukrowego w warunkach suszy. *Proc. ECOpole* 11(1) (2017) 279-286.
- [240]. Z. Moieni-Korbekandi, G. Karimzadeh, M. Sharifi. Cold-induced Changes of Proline, Malondialdehyde and Chlorophyll in Spring Canola Cultivars. *Journal of Plant Physiology and Breeding.* 4(1) (2014) 1-11.

- [241]. D. Inzé, M. Van Montagu. Oxidative stress in plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 6 (1995) 153-158.
- [242]. R. Biczak, P. Pawłowska, A. Telesiński, J. Kapuśniak. Role of cation structure in the phytotoxicity of ionic liquids: growth inhibition and oxidative stress in spring barley and common radish. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24 (2017) 18444-18457.
- [243]. J. Matysik, Alia, B. Bhalu, P. Mohanty. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Curr. Sci.*, 82(5) (2002) 525-532.
- [244]. T. Liu, J. Wang, J. Wang, L. Zhu. Assessing the influence of 1-dodecyl-3-methyl-imidazolium chloride on soil characteristics and *Vicia faba* seedlings. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 152 (2018) 114-120.
- [245]. E. Sánchez-Rodríguez, M.A.M. Rubio-Wilhelmi, L.M. Cervilla, B. Blasco, J.J. Rios, M.A. Rosales, L. Romero, J.M. Ruiz. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Sci.* 178 (2010) 30-40.
- [246]. J. Żuchowski. Roślinne dysmutazy ponadtlenkowe. *Kosmos* 48(1) (1999) 87-93.
- [247]. B. Halliwell, Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 141, 2006. 312-322.
- [248]. F. van Breusegem, E. Vranova, J.F. Dat, D. Inze. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Sci.* 161 (2001) 405-414.
- [249]. D. Ścibior, H. Czeczot. Katalaza: budowa, właściwości, funkcje. *Post. Hig. Med. Dośw.* 60 (2006) 170-180.
- [250]. P.C.A.G. Pinto, A.D.F. Costa, J.L.F.C. Lima, M.L.M.F.S. Saraiva. Automated evaluation of the effect of ionic liquids on catalase activity. *Chemosphere* 82 (2011) 1620-1628.
- [251]. T. Praczyk, G. Skrzypczak. *Herbicydy*, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Poznań, 2004.
- [252]. E. Stupnicka-Rodzinkiewicz, T. Dabkowska, A. Stokłosa, T. Hura, F. Dubert, A. Lepiarczyk. The effect of selected phenolic compounds on the initial growth of four weed species. *Journal of Plant Diseases and Protection* special issue XX (2006) 479-486.
- [253]. S. Yao, S. Chen, D. Xu, H. Lan. Plant growth and responses of antioxidants of *Chenopodium album* to long-term NaCl and KCl stress. *Plant Growth Regulation* 60 (2010) 115-125.
- [254]. K. Klem, M. Špundová, H. Hrabalová, J. Nauš, M. Váňoá, J. Masojídek. Comparison of chlorophyll fluorescence and whole-plant bioassays of isoproturon. *Weed Research* 42 (2002) 335-341.

DOROBEK NAUKOWY

Index Hirscha – 9 według bazy Web of Science

Index Hirscha – 8 według bazy Scopus

Sumaryczna ilość cytowań – 239 (159 bez autocytowań) według bazy Web of Science

Sumaryczna ilość cytowań – 249 (145 bez autocytowań) według bazy Scopus

Sumaryczny IF – 68,781

Publikacje naukowe:

Publikacje naukowe z IF

1. Biczak R., Bałczewski P., Bachowska B., **Pawłowska B.**, Kaźmierczak-Barańska J., Cieślak M., Nawrot B., Phytotoxicity and cytotoxicity of imidazolium ionic liquids containing sulfur atom, Phosphorus, *Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 2013, 188, 459-461. **IF=0,610**
2. Biczak R., **Pawłowska B.**, Bałczewski P., Rychter P., The role of the anions in the toxicity of imidazolium ionic liquids, *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 274, 181-190. **IF=4,331**
3. Biczak R., Bałczewski P., **Pawłowska B.**, Bachowska B., Rychter P., Comparison of phytotoxicity of selected phosphonium ionic liquid, *Ecological Chemistry and Engineering S*, 2014, 21(2), 281-295. **IF=0,382**
4. Biczak R., **Pawłowska B.**, Feder-Kubis J., The phytotoxicity of ionic liquids from natural pool (-)-menthol with tetrafluoroborate anion, *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22, 11740-11754. **IF=2,828**
5. **Pawłowska B.**, Biczak R., Evaluation of the effect of tetraethylammonium bromide and chloride on the growth and development of terrestrial plants, *Chemosphere*, 2016, 149, 24-33. **IF=3,698**
6. Biczak R., **Pawłowska B.**, Telesiński A., Ciesielski W., The effect of the number of alkyl substituents on imidazolium ionic liquids phytotoxicity and oxidative stress in spring barley and common radish seedlings, *Chemosphere*, 2016, 165, 519-528. **IF=3,698**
7. Biczak R., Telesiński A., **Pawłowska B.**, Oxidative stress in spring barley and common radish exposed to quaternary ammonium salts with hexafluorophosphate anion, *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 107, 248-256. **IF=2,928**
8. Biczak R., **Pawłowska B.**, Płatkowski M., Stręk M., Telesiński A., Effect of quaternary ammonium salts with fluorine atoms on selected weed species, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2017, 98, 567–573. **IF=1,191**
9. Biczak R., Śnioszek M., Telesiński A., **Pawłowska B.**, Growth inhibition and efficiency of the antioxidant system in spring barley and common radish grown on soil polluted QAS with iodide anions, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 139, 463-471. **IF=3,130**

10. Biczak R., **Pawłowska B.**, Telesiński A., Kapuśniak J., Role of cation structure in the phytotoxicity of ionic liquids: growth inhibition and oxidative stress in spring barley and common radish, *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24, 18444-18457. **IF=2,741**
11. Biczak R., **Pawłowska B.**, Feder-Kubis J., Telesiński A., Comparison of the effect of ionic liquids containing hexafluorophosphate and trifluoroacetate anions on the inhibition of growth and oxidative stress in spring barley and common radish, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2017, Vol. 36, No. 8, 2167–2177. **IF=2,951**
12. **Pawłowska B.**, Telesiński A., Płatkowski M., Stręk M., Śnioszek M., Biczak R., Reaction of Spring Barley and Common Radish on the Introduction of Ionic Liquids Containing Asymmetric Cations to the Soil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65, 4562–4571. **IF=3,154**
13. Biczak R., **Pawłowska B.**, Tomczuk K., Feder-Kubis J., The effect of ionic liquids with the tetrafluoroborate anion on terrestrial plants, *Environmental Protection Engineering*, 2017, vol. 44, no.2, 41-52. **IF=0,505**
14. Biczak R., Telesiński A., **Pawłowska B.**, Curyło K., Śnioszek M., Phytotoxicity of quaternary ammonium salts with hexafluorophosphate anion, *Fresenius Environmental Bulletin*, 2018, 27, 1772-1777. **IF=0,673**
15. Telesiński A., Płatkowski M., Cybulska K., Telesińska N., Wróbel J., **Pawłowska B.**, Response of Soil Enzymes to Two Antibiotics: Polymyxin B and Penicillin G, *Fresenius Environmental Bulletin*, 2018, 27, 3837-3845. **IF=0,673**
16. Turek M., Biczak R., **Pawłowska B.**, Różycka-Sokołowska E., Marciniak B., Deska M., Skalik J., Bałczewski P., Ammonium haloacetates e An alternative to glyphosate?, *Chemosphere*, 2018, 194, 650-656. **IF=4,427**
17. Telesiński A., Biczak R., Stręk M., Płatkowski M., **Pawłowska B.**, Emin N., A study on the fluoride content and the enzymatic activity in soil exposed to inorganic ammonium salt and quaternary ammonium salts with hexafluorophosphate anions, *Fluoride*, 2018, 51(3), 206-219. **IF=1,438**
18. Biczak R., Turek M., **Pawłowska B.**, Różycka-Sokołowska E., Marciniak B., Deska M., Krupa P., Jatulewicz I., Skalik J., Bałczewski P., An influence of structural changes in ammonium cations on ecotoxicity of 2,2'-thiodiacetate mono and bis-salts, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 155, 37-42. **IF=3,974**
19. Bałczewski P., Biczak R., Turek M., **Pawłowska B.**, Różycka-Sokołowska E., Marciniak B., Deska M., Skalik J., Ammonium 2,2'-thiodiacetates – Selective and environmentally safe herbicides, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 163, 408-416. **IF=3,974**
20. **Pawłowska B.**, Telesiński A., Wróbel J., Biczak R., Curyło K., Role of an anion in the effect of tetrabutylammonium salts on common radish seedlings: growth inhibition and oxidative stress, *Journal of Elementology*, 23(4) (2018) 1373-1385. **IF=0,684**
21. **Pawłowska B.**, Feder-Kubis J., Telesiński A., Biczak R., Biochemical Responses of Wheat Seedlings on the Introduction of Selected Chiral Ionic Liquids to the

- Soils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67, 3086–3095. **IF=3,571**
22. Śnioszek M., Telesiński A., Biczak R., Płatkowski M., **Pawłowska B.**, Wróbel J., Comparison of the effects of soil treatment with NaF and KF on antioxidant enzymes in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings, *Fluoride*, 2019, 52, 199-208. **IF= 1.438**
 23. **Pawłowska B.**, Telesiński A., Biczak R., Phytotoxicity of ionic liquids, *Chemosphere*, 2019, 237, 124436. **IF=5,108**
 24. Telesiński A., Krzyśko-Łupicka T., Cybulska K., **Pawłowska B.**, Biczak R., Śnieg M., Wróbel J., Comparison of oxidoreductive enzyme activities in three coal tar creosote-contaminated soils, *Soil Research*, 2019, 57(8), 814-824. **IF=1,569**
 25. Biczak R., **Pawłowska B.**, Podsiadło c., Telesiński A., Toxicity of ammonium hexafluorophosphate to selected terrestrial plants, *Fresenius Environmental Bulletin*, 2019, 28(10), 7101-7107. **IF=0,691**
 26. Telesiński A., Zambrana A.B, Jarnuszewski G., Curyło K., Krzyśko-Łupicka T., **Pawłowska B.**, Cybulska K., Wróbel J., Rynkiewicz M., Effect of rhamnolipids on microbial biomass content and biochemical parameters in soil contaminated with coal tar creosote, *Open Life Science*, 2019, 14, 537–548. **IF=0,764**
 27. Turek M., **Pawłowska B.**, Różycka-Sokołowska E., Biczak R., Skalik J., Owsianik K., Marciniak B., Bałczewski P., Ecotoxicity of ammonium chlorophenoxyacetate derivatives towards aquatic organisms: Unexpected enhanced toxicity upon oxygen by sulfur replacement, *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 382, 121086. **IF=7,650**

Publikacje naukowe bez IF

1. Biczak R., Bałczewski P., **Pawłowska B.**, Herman B., Rychter P., Fitotoksyczność cieczy jonowej pochodnej imidazolu, *Proceedings of ECOpole*, 2012, 6(1), 487-497.
2. Biczak R., **Pawłowska B.**, Bałczewski P., Bachowska B., Herman B., Phytotoxicity of ionic liquid containing phosphorus atom, *Ecological Chemistry and Engineering A*, 2013, 20(6), 621-630.
3. **Pawłowska B.**, Biczak R., Bałczewski P., Fitotoksyczność kwasu 2,2'-tiodioctowego w stosunku do wybranych roślin wyższych, *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 2013, 16(4), 487-498.
4. **Pawłowska B.**, Bachowska B., Bałczewski P., Biczak R., Badania fitotoksyczności fosfoniowych cieczy jonowych, *Prace Naukowe AJD w Częstochowie, Technika, Informatyka, Inżynieria Bezpieczeństwa*, 2014, t.II, 239-251.
5. Biczak R., **Pawłowska B.**, Effect of the quaternary ammonium salts, tetraethylammonium halide on *Rumex acetosa* L., *Chenopodium album* L. and *Galinsoga parviflora* Cav.: inhibition of growth and changes in assimilation pigments content in plants, *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis seria Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*, 2016, 39(3), 35-52.

6. Biczak R., **Pawłowska B.**, Feder-Kubis J., Inhibicja wzrostu i stres oksydacyjny w roślinach pod wpływem chiralnej imidazoliowej cieczy jonowej z anionem tetrafluoroboranowym, *Chemistry. Environmental. Biotechnology.*, 2016, 19, 35-45.
7. **Pawłowska B.**, Biczak R., Wpływ tetrafluoroboranu amonu i heksafluorofosforanu amonu na wybrane gatunki chwastów – inhibicja wzrostu i zmiany zawartości barwników asymilacyjnych w roślinach, *Chemistry. Environmental. Biotechnology.*, 2016, 19, 19-27.
8. **Pawłowska B.**, Biczak R., Toksyczność czwartorzędowych soli amoniowych z anionem jodkowym: inhibicja wzrostu i zmiany zawartości barwników asymilacyjnych w roślinach, *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 2016, 19(1), 51-65.
9. **Pawłowska B.**, Telesiński A., Stręk M., Płatkowski M., Śnioszek M., Biczak R., Toksyczność imidazoliowych cieczy jonowych z anionem zawierającym fluor dla wybranych gatunków chwastów, *Proceedings of Ecopole*, 2016, 10(2), 595-605.
10. Śnioszek M., Płatkowski M., Stręk M., Mielczarek M., Telesiński A., Wróbel J., Biczak R., **Pawłowska B.**, Wpływ supersorbentu polimerowego na wybrane parametry biochemiczne w glebie i siewkach pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.), *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2016, 587, 41-49.
11. Telesiński A., Biczak R., **Pawłowska B.**, Stręk M., Płatkowski M., Porównanie ekotoksyczności 1-butylo-2,3-dimetyloimidazoliowych cieczy jonowych z anionem tetrafluoroboranowym i heksafluorofosforanowym w stosunku do wybranych enzymów glebowych, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2016, 587, 23-30.
12. Telesiński A., Śnioszek M., Biczak R., **Pawłowska B.**, Zagrożenia środowiskowe i toksykologiczne wynikające ze stosowania czwartorzędowych soli amoniowych, *Kosmos*, 2016, tom 65, nr.4, 495-502.
13. Telesiński A., Śnioszek M., Biczak R., **Pawłowska B.**, Response of soil phosphatases to three different ionic liquids with hexafluorophosphate anion, *Journal of Ecological Engineering*, 2017, 18(2), 86-91.
14. Telesiński A., **Pawłowska B.**, Biczak R., Pater J., Activity of dehydrogenases in clay soil exposed to quaternary ammonium salts with the iodine anion, *Polish Journal of Soil Science*, 2017, 50 (2), 189-196.
15. Telesiński A., Curyło K., Płatkowski M., Krzyśko-Łupicka T., **Pawłowska B.**, Cybulska K., Combined effect of low-molecular-weight organic acids and creosote on phosphatase activities in sandy soil. *Polish Journal of Soil Science*, 2017, 50 (2), 177-187.

Doniesienia konferencyjne:

1. Biczak R., Bałczewski P., **Pawłowska B.**, Rychter P., Herman B., 2011, Study of phytotoxicity of ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium dimethylphosphate, XVIIth International Seminar on Physics and Chemistry of Solid, Bystre.
2. Biczak R., Bałczewski P., **Pawłowska B.**, Herman B., Rychter P., 2011, Phytotoxicity of ionic liquid, a derivative of imidazole, Środkowoeuropejska Konferencja ECOpole'11, Zakopane.

3. Biczak R., Bałczewski P., Bachowska B., **Pawłowska B.**, 2012, Phytotoxicity and cytotoxicity of imidazolium ionic liquids containing sulfur atom, 25th International Symposium on the Organic Chemistry of Sulfur, Częstochowa.
4. Biczak R., Bałczewski P., **Pawłowska B.**, Bachowska B., Rychter P., 2012, Comparison of phytotoxicity of selected phosphonium ionic liquids, Środkowoeuropejska Konferencja ECOpole'12, Zakopane.
5. Biczak R., **Pawłowska B.**, Bałczewski P., Bachowska B., Herman B., 2012, Phytotoxicity ionic liquid containing phosphorus atom, Środkowoeuropejska Konferencja ECOpole'12, Zakopane.
6. **Pawłowska B.**, Biczak R., Bałczewski P., 2013, Phytotoxicity of 2,2'-thiodiacetic acid, XIXth International Seminar on Physics and Chemistry of Solid, Częstochowa
7. Biczak R., **Pawłowska B.**, Bałczewski P., 2013, Właściwości herbicydowe kwasu 2,2'-tiodioctowego, 56 Zjazd PTChem., Siedlce.
8. **Pawłowska B.**, Biczak R., Bałczewski P., 2013, Badanie fitotoksyczności 2,2-bis(p-hydroksyfenylo)propanu, 56 Zjazd PTChem., Siedlce.
9. Biczak R., **Pawłowska B.**, Bałczewski P., 2013, Określenie toksyczności bisfenolu A dla wybranych gatunków roślin, 56 Zjazd PTChem., Siedlce.
10. Biczak R., **Pawłowska B.**, Bałczewski P., 2014, Określenie toksyczności cieczy jonowych dla lądowych roślin wyższych, III Międzynarodowa Konferencja Naukowa, Inżynieria Bezpieczeństwa a Zagrożenia Cywilizacyjne: Zmienność Zagrożeń a Innowacje w Ratownictwie, Częstochowa.
11. **Pawłowska B.**, Bałczewski P., Biczak R., 2014, Określenie fitotoksyczności 1,1,1-trichlorometylo-2-propan-2-olu, 57 Zjazd PTChem., Częstochowa.
12. **Pawłowska B.**, Bałczewski P., Biczak R., 2014, Toksyczność bromku 1-butylo-1-metylopirolidyniowego dla roślin wyższych, 57 Zjazd PTChem., Częstochowa.
13. Biczak R., Bałczewski P., **Pawłowska B.**, 2014, Toksyczne oddziaływanie chlorobutanolu dla wybranych gatunków roślin wyższych, 57 Zjazd PTChem., Częstochowa.
14. Biczak R., Bałczewski P., **Pawłowska B.**, 2014, Właściwości chwastobójcze jodku trifenylo-metylofosfoniowego, 57 Zjazd PTChem., Częstochowa.
15. Biczak R., **Pawłowska B.**, Bałczewski P., 2014, Określenie toksyczności cieczy jonowych dla lądowych roślin wyższych, III Międzynarodowa Konferencja Naukowa, Inżynieria Bezpieczeństwa a Zagrożenia Cywilizacyjne: Zmienność Zagrożeń a Innowacje w Ratownictwie, Częstochowa.
16. Biczak R., **Pawłowska B.**, 2015, Reakcja roślin na występowanie w podłożu czwartorzędowych soli amoniowych, V Konferencja Bioindykacyjna, Lublin.
17. **Pawłowska B.**, Biczak R., 2015, Fitotoksyczność tetrafluoroboranu amonu dla wybranych roślin wyższych, V Konferencja Bioindykacyjna, Lublin.
18. **Pawłowska B.**, Bałczewski P., Matula A., Biczak R., 2015, Toxicity of diisopropylammonium chloroacetate for terrestrial plants, 7th International Meeting on Halogen Chemistry (HALCHEM 7), Częstochowa.
19. Biczak R., Bałczewski P., Gębka P., **Pawłowska B.**, 2015, Phytotoxicity of diisopropylammonium dichloroacetate (DIPA), 7th International Meeting on Halogen Chemistry (HALCHEM 7), Częstochowa.

20. Biczak R., **Pawłowska B.**, 2015, Effect of quaternary ammonium salts on terrestrial plants, XXth International Seminar on Physics and Chemistry of Solid, Lwów, Ukraina.
21. **Pawłowska B.**, Biczak R., 2015, Phytotoxicity of ammonium tetrafluoroborate, XXth International Seminar on Physics and Chemistry of Solid, Lwów, Ukraina.
22. Biczak R., **Pawłowska B.**, 2015, Określenie fitotoksyczności bromku tetraetyloamoniowego, 58 Zjazd PTChem., Gdańsk.
23. **Pawłowska B.**, Biczak R., Bałczewski P., 2015, Właściwości herbicydowe 2,2'-tiodioctanu trietyloamoniowego, 58 Zjazd PTChem., Gdańsk.
24. **Pawłowska B.**, Bałczewski P., Biczak R., 2015, Toksyczność wybranych 2,2'-tiodioctanów dla roślin wyższych, 58 Zjazd PTChem., Gdańsk.
25. Biczak R., **Pawłowska B.**, P. Bałczewski, 2016, Toksyczność czwartorzędowych 2,2'-tiodioctanów amoniowych, VI Konferencja Bioindykacyjna, Szczecin.
26. **Pawłowska B.**, Biczak R., 2016, Toksyczność jodków amoniowych dla wybranych roślin wyższych, VI Konferencja Bioindykacyjna, Szczecin.
27. Telesiński A., Biczak R., Śnioszek M., **Pawłowska B.**, 2016, Zagrożenia środowiskowe i toksykologiczne wynikające ze stosowania czwartorzędowych soli amoniowych, II Międzynarodowa Konferencja „Ekologia człowieka”, Szczecin.
28. Telesiński A., Biczak R., **Pawłowska B.**, Stręk M., Płatkowski M., 2016, Porównanie ekotoksyczności heksafluorofosforanu i tetrafluoroboranu 1-butylo-2,3-dimetyloimidazoliowego w stosunku do wybranych enzymów glebowych. 50 Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Mikroorganizmy w ochronie środowiska i biotechnologii”, Kraków – Sieniawa.
29. Biczak R., **Pawłowska B.**, Turek M., Bałczewski P., Różycka-Sokołowska E., Deska M., Marciniak B., 2016, Fitotoksyczność trichloroocetanu diizopropyloamoniowego dla roślin wyższych, 59 Zjazd PTChem., Poznań.
30. Biczak R., Bałczewski P., **Pawłowska B.**, Marciniak B., Różycka-Sokołowska E., Deska M., Turek M., 2016, Reakcja skorupiaków na czwartorzędowe sole amoniowe z kationem diizopropyloamoniowym, 59 Zjazd PTChem., Poznań.
31. **Pawłowska B.**, Biczak R., Turek M., Bałczewski P., Marciniak B., Deska M., Różycka-Sokołowska E., 2016, Określenie fitotoksyczności chlorodifluoroocetanu diizopropyloamoniowego, 59 Zjazd PTChem., Poznań.
32. **Pawłowska B.**, Bałczewski P., Turek M., Biczak R., Deska M., Marciniak B., Różycka-Sokołowska E., 2016, Toksyczność czwartorzędowych soli amoniowych dla bakterii luminescencyjnych, 59 Zjazd PTChem., Poznań.
33. Śnioszek M., Telesiński A., Biczak R., **Pawłowska B.**, 2016, Zmiany aktywności fosfataz w glebie pod wpływem wybranych cieczy jonowych z anionem heksafluorofosforanowym, Krajowa Platforma Glebowa, Warsztaty Naukowe „Wskaźniki oceny jakości gleb”, Warszawa.
34. Telesiński A., Biczak R., Płatkowski M., Stręk M., **Pawłowska B.**, 2016, Aktywność enzymatyczna jako wskaźnik oddziaływania czwartorzędowych soli amoniowych na środowisko glebowe, Krajowa Platforma Glebowa, Warsztaty Naukowe „Wskaźniki oceny jakości gleb”, Warszawa.

35. Biczak R., **Pawłowska B.**, Feder-Kubis J., 2016, The effect of ionic liquids with (–)-menthol derivative containing a chloride anion on selected weed species, Środkowoeuropejska Konferencja ECOpole'16, Zakopane.
36. **Pawłowska B.**, Telesiński A., Płatkowski M., Stręk M., Śnioszek M., Biczak R., 2016, Toxicity of imidazolium ionic liquids with the anion containing fluorine for some weed species, Środkowoeuropejska Konferencja ECOpole'16, Zakopane.
37. Telesiński A., Biczak R., Płatkowski M., Stręk M., **Pawłowska B.**, 2016, Zmiany właściwości enzymów oksydoredukcyjnych w glebie pod wpływem wybranych cieczy jonowych z anionem heksafluorofosforanowym, I Ogólnopolskie Sympozjum Mikrobiologiczne „Metagenomy różnych środowisk”, Puławy.
38. **Pawłowska B.**, Biczak B., Turek M., Bałczewski B., Marciniak B., Deska M., Różycka-Sokołowska E., 2017, Comparison of phytotoxicity of bis(alkylammonium) 2,2'-thiodioacetates, Ecological and Environmental Chemistry, Mołdawia.
39. Biczak R., **Pawłowska B.**, Turek M., Bałczewski P., Marciniak B., Deska M., Różycka-Sokołowska E., (Eco)toxicity of isoquinolinium 2,2'-thiodioacetate to organisms from different trophic levels, Ecological and Environmental Chemistry, Mołdawia.
40. Biczak R., Telesiński A., **Pawłowska B.**, 2017, Phytotoxicity of quaternary ammonium salts with hexafluorophosphate anion, 1st International Conference on Advances in Energy Systems and Environmental Engineering, Wrocław.
41. Telesiński A., **Pawłowska B.**, Biczak R., 2017, The effect of number of alkyl substituents in quaternary ammonium salts with iodine anion on soil enzymatic activity, IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa Biologiczne Metody Oceny Stanu Środowiska Przyrodniczego, Szczecin – Siemczyno.
42. Telesiński A., Krzyśko-Łupicka T., Cybulska K., **Pawłowska B.**, 2017, Combined effect of short chain organic acids and creosote on phosphatase activities in sandy soil, IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa Biologiczne Metody Oceny Stanu Środowiska Przyrodniczego, Szczecin – Siemczyno.
43. Płatkowski M., Biczak R., **Pawłowska B.**, Stręk M., Telesiński A., 2017, Oddziaływanie czwartorzędowych soli amoniowych z anionami zawierającymi atomy fluoru na Wybrane gatunki chwastów, Konferencja Naukowa „Bioróżnorodność środowiska - znaczenie, problemy, wyzwania”. Puławy.
44. Telesiński A., Curyło K., **Pawłowska B.**, Biczak R., 2017, Ocena oddziaływania 1-alkilo-3-metyloimidazoliowych cieczy jonowych z anionem tetrafluoroboranowym na aktywność fosfatazy kwaśnej w różnych typach gleb, Konferencja Naukowa „Bioróżnorodność środowiska – znaczenie, problemy, wyzwania”. Puławy.
45. Telesiński A., Curyło K., Biczak R., **Pawłowska B.**, 2017, Porównanie oddziaływania 1-alkilo_3-metyloimidazoliowych cieczy jonowych z anionem tetrafluoroboranowym na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie, II Ogólnopolskie Sympozjum Mikrobiologiczne „METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK”, Lublin.
46. Biczak R., **Pawłowska B.**, Telesiński A., Curyło K., 2018, Porównanie ekotoksyczności chlorku 1-etylo-3-metyloimidazoliowego i chlorku 1-butylo-3-

metyloimidazoliowego w stosunku do aktywności enzymów glebowych, Konferencja Naukowa „Bioróżnorodność funkcjonalna gleb Polski”, IUNG-PIB, Puławy.

47. Onyszko M., Telesiński A., Dunikowska D., Biczak R., Pawłowska B., 2018, Ocena toksyczności w środowisku glebowym herbicydu Devrinol 450 SC w oparciu o teksty Mictotox® i Ostracodtoxkit^{FTM}, Konferencja Naukowa „Bioróżnorodność funkcjonalna gleb Polski”, IUNG-PIB, Puławy.
48. **Pawłowska B.**, Telesiński A., Biczak R., 2019, Reakcja siewek jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.) na obecność w glebie cieczy jonowej – bromku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego, IX Krajowa Konferencja Bioindykacyjna „Praktyczne wykorzystanie systemów bioindykacyjnych do oceny jakości i toksyczności środowiska i substancji chemicznych”, Poznań.
49. Biczak R., Telesiński A., Dunikowska D., Curyło K., **Pawłowska B.**, 2019, Fitotoksyczność heksafluorofosforanu amonu dla wybranych gatunków roślin wyższych, 62. Zjazd PTChem., Warszawa.
50. **Pawłowska B.**, Płatkowski M., Węgrzynowski Ł., Telesiński A., Biczak R., 2019, Określenie toksyczności heksafluorofosforanu 1-butylo-4-metylopirydyniowego dla wybranych gatunków lądowych roślin wyższych, 62. Zjazd Zjazd PTChem., Warszawa.
51. **Pawłowska B.**, 2019, Toksyczność tetrafluoroboranu amonu dla lądowych roślin wyższych, 62. Zjazd Zjazd PTChem., Warszawa.
52. **Pawłowska B.**, Telesiński A., Curyło K., Śnioszek M., Biczak R., 2019, Badanie fitotoksyczności czwartorzędowej soli amoniowej, zawierającej anion heksafluorofosforanowy, 62. Zjazd Zjazd PTChem., Warszawa.

Zgłoszenia patentowe krajowe:

1. Bałczewski P., Biczak R., **Pawłowska B.**, Zastosowanie soli jonowych zawierających kation fosfoniowy, P.404642 z dnia: 11.07.2013.
2. Biczak R., Feder-Kubis J., Pawłowska B., Zastosowanie soli jonowych zawierających chiralny kation alkilimidazoliowy oraz anion tetrafluoroboranowy, P.406802 z dnia: 09.01.2014.
3. Biczak R., **Pawłowska B.**, Feder-Kubis J., Ciesielski W., Zastosowanie czwartorzędowych, chiralnych chlorków imidazoliowych o charakterze cieczy jonowych, P.409721 z dnia: 07.10.2014.
4. Bałczewski P., Biczak R., **Pawłowska B.**, Marciniak B., Różycka-Sokołowska E., Dondela B., Czwartorzędowe sole amoniowe, sposób ich wytwarzania oraz ich zastosowanie, P.410618 z dnia 18.12.2014.
5. Biczak R., Ciesielski W., Drabowicz J., **Pawłowska B.**, Mirosznichenko St., Kulawik D., Pokora-Sobczak P., Krasowska D., Zastosowanie cieczy jonowych, pochodnych tlenków trzeciorzędowych fosfin z terminalną grupą aminową, P.412771 z dnia: 18.06.2015.

Zgłoszenia krajowe zagraniczne

1. Bałczewski P., Biczak R., **Pawłowska B.**, The use of ionic salts containing phosphonium cation, EP13193309.5 z dnia: 18.11.2013.
2. Biczak R., Feder-Kubis J., **Pawłowska B.**, The use of the ionic salts containing chiral alkyimidazoliium cation and tetrafluoroborate anion, EP14460015.02 z dnia: 13.03.2014.
3. Bałczewski P., Biczak R., **Pawłowska B.**, Marciniak B., Różycka-Sokołowska E., Dondela B., The quaternary ammonium salts containing 2,2'-thiodiacetate anions, a method of their preparation and their use, EP15156707.0 z dnia: 26.02.2015.
4. Biczak R., Ciesielski W., Drabowicz J., **Pawłowska B.**, Mirosznichenko St., Kulawik D., Pokora-Sobczak P., Krasowska D., The use of ionic liquids, tertiary phosphine oxides derivatives with a terminal amino group, EP15460035.7 z dnia: 30.07.2015.

Uzyskane patenty

1. Biczak R., **Pawłowska B.**, Feder-Kubis J., Ciesielski W., Zastosowanie czwartorzędowych, chiralnych chlorków imidazoliowych o charakterze cieczy jonowych, PL 226335 B1, 31.07.2017.
2. Bałczewski P., Biczak R., **Pawłowska B.**, Zastosowanie soli jonowych zawierających kation fosfoniowy, PL 227009 B1, 31.10.2017.

Udział w projektach badawczych

1. Tytuł projektu: „Projektowanie nowych chiralnych i achiralnych czwartorzędowych soli heteroniowych o założonych właściwościach herbicydowych oraz badanie ich eko(fito)toksyczności” realizowany w ramach konkursu NCN OPUS 5. Numer umowy: UMO-2013/09/B/ST5/03541 (2014-2017). Imienny wykonawca.

Kierowanie projektami w ramach badań statutowych dla młodych naukowców Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego i. J. Długosza w Częstochowie (dawniej Akademii im. J. Długosza w Częstochowie):

1. DSM/WMP/19/2012. Temat: Badanie aktywności biologicznej imidazoliowych cieczy jonowych z podstawnikami alifatycznymi o różnej długości łańcucha (2012)
2. DSM/WMP/9/2013. Temat: Określenie fitotoksyczności wybranych cieczy jonowych (2013)
3. DSM/WMP/6516/2014. Temat: Określenie fitotoksyczności i właściwości herbicydowych wybranych cieczy jonowych (2014)
4. DSM/WMP/5510/2015. Temat: Określenie fitotoksyczności i właściwości herbicydowych wybranych cieczy jonowych (2015)
5. DSM/WMP/6512/2016. Temat: Określenie fitotoksyczności i właściwości herbicydowych wybranych cieczy jonowych (2016)
6. DSM/WMP/5516/2017. Temat: Określenie fitotoksyczności i właściwości herbicydowych wybranych cieczy jonowych (2017)
7. DSM/WMP/6507/2018. Temat: Określenie fitotoksyczności i właściwości herbicydowych wybranych cieczy jonowych (2018)

Uzyskane nagrody

1. Nagroda Rektora AJD za szczególne osiągnięcia w pracy, 2013
2. Nagroda Rektora AJD za szczególne osiągnięcia w pracy, 2014
3. Nagroda Rektora UJD za szczególne osiągnięcia w pracy, 2018
4. Nagroda Rektora UJD za szczególne osiągnięcia w pracy, 2019