



UMCS

UNIwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie

Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych

Dziedzina: **nauk rolniczych**

Dyscyplina: **rolnictwo i ogrodnictwo**

Dominika Gmur

nr albumu: 305774

**Ocena występowania pierwiastków ziem rzadkich w
glebach i odpadach oraz możliwości ich odzysku w procesie
fitoekstrakcji**

**(Evaluation of the occurrence of rare earth elements in soils and
waste and potential for their recovery through phytoextraction)**

Rozprawa doktorska przygotowywana pod kierunkiem naukowym:
dr hab. Grzegorza Siebielca, prof. IUNG-PIB

w Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa –
Państwowym Instytucie Badawczym w Puławach

LUBLIN, 2025

*Pragnę wyrazić sedeczne podziękowania mojemu promotorowi, Panu **dr hab. Grzegorzowi Siebielcowi** za nieocenioną pomoc, wsparcie i merytoryczne wskazówki, które towarzyszyły mi na każdym etapie pracy nad niniejszą rozprawą doktorską. Pragnę podziękować za życzliwość, cierpliwość a także poświęcony mi czas.*

*Podziękowania kieruję również do **Koleżanek i Kolegów z Zakładu Gleboznawstwa i Analiz Środowiskowych** za wszelkie wsparcie oraz pomoc w realizacji badań.*

*Wyrazy wdzięczności składam również mojej **rodzinie oraz przyjaciółom** za wyrozumiałość i wsparcie.*

SPIS PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

W skład niniejszej rozprawy doktorskiej wchodzi następujące publikacje naukowe:

Lp.	Bibliografia	Punkty wg. MNiSW
1.	Gmur D., Siebielec G. 2022. Phytoextraction of Rare Earth Elements. Polish Journal of Agronomy, 50, 3–11.*	20
2.	Gmur D., Siebielec G., Pecio M. 2025. Differences in Accumulation of Rare Earth Elements by Plants Cultivated in Soil and Substrates from Industrial Waste Materials. Plants, 14(4), 589.	70
3.	Gmur D., Siebelec G., Pecio M. Chelate-induced accumulation of rare earth elements in plants grown on soil and ash-based growing media. Current Agronomy, 2025, 2, 1 – 17.	20

*Czasopismo istniało do roku 2023, obecnie Current Agronomy

**OŚWIADCZENIE DOKTORANTA I WSPÓŁAUTORÓW DOTYCZĄCE
WKŁADU W PRZYGOTOWANIE PUBLIKACJI**

Oświadczenie doktoranta jako współautora publikacji

mgr Dominika Gmur

Zakład Gleboznawstwa i Analiz Środowiskowych

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

Oświadczam, że jestem współautorem publikacji:

1. Gmur D., Siebielec G. Phytoextraction of rare earth elements. Polish Journal Agronomy, 2022, 50, 3 – 11, doi: 10.26114/pja.iung.494.2022.50.01.

Mój udział w przygotowaniu publikacji wynosił 85% i polegał na napisaniu maszynopisu pracy oraz odpowiedzi na recenzję.

2. Gmur D., Siebelec G., Pecio M. Differences in accumulation of rare earth elements by plants cultivated in soil and substrates from industrial waste materials. Plants, 2025, 14(4), 589, doi: 10.3390/plants14040589.

Mój udział w przygotowaniu publikacji wynosił 65% i polegał na opracowaniu koncepcji badań, zebraniu materiału badawczego, prowadzeniu doświadczenia szklarniowego oraz wykonaniu niektórych analiz laboratoryjnych, interpretacji wyników i napisaniu maszynopisu pracy oraz odpowiedzi na recenzję.

3. Gmur D., Siebelec G., Pecio M. Chelate-induced accumulation of rare earth elements in plants grown on soil and ash-based growing media. Current Agronomy, 2025, 2, 1 – 17, doi: 10.2478/cag-2025-0001.

Mój udział w przygotowaniu publikacji wynosił 65% i polegał na opracowaniu koncepcji badań, zebraniu materiału badawczego, prowadzeniu doświadczenia szklarniowego oraz wykonaniu niektórych analiz laboratoryjnych, interpretacji wyników i napisaniu maszynopisu pracy oraz odpowiedzi na recenzję.

data 26.02.2025

Dominika Gmur

(podpis osoby składającej oświadczenie)

Oświadczenie współautora publikacji doktoranta

dr hab. Grzegorz Siebielec, prof. IUNG - PIB

Zakład Gleboznawstwa i Analiz Środowiskowych

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

W związku z ubieganiem się mgr Dominiki Gmur o stopień nauk rolniczych, oświadczam, że jestem współautorem publikacji:

1. Gmur D., Siebielec G. Phytoextraction of rare earth elements. Polish Journal of Agronomy, 2022, 50, 30 – 11, doi: 10.26114/pja.iung.494.2022.50.01.

Mój udział w przygotowaniu publikacji wynosił 15% i polegał na korekcie merytorycznej maszynopisu.

2. Gmur D., Siebelec G., Pecio M. Differences in accumulation of rare earth elements by plants cultivated in soil and substrates from industrial waste materials. Plants, 2025, 14(4), 589, doi: 10.3390/plants14040589.

Mój udział w przygotowaniu publikacji wynosił 30% i polegał na merytorycznym nadzorze przy planowaniu i prowadzeniu badań, pomocy w interpretacji wyników, korekcie merytorycznej maszynopisu.

3. Gmur D., Siebelec G., Pecio M. Chelate-induced accumulation of rare earth elements in plants grown on soil and ash-based growing media. Current Agronomy, 2025, 2, 1 – 17, doi: 10.2478/cag-2025-0001.

Mój udział w przygotowaniu publikacji wynosił 30% i polegał na merytorycznym nadzorze przy planowaniu i prowadzeniu badań, pomocy w interpretacji wyników, korekcie merytorycznej maszynopisu.

data...26.02.2025...


.....
(podpis osoby składającej oświadczenie)

Oświadczenie współautora publikacji doktoranta

mgr inż. Monika Pecio

Zakład Gleboznawstwa i Analiz Środowiskowych

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

W związku z ubieganiem się mgr Dominiki Gmur o stopień nauk rolniczych, oświadczam, że jestem współautorem publikacji:

1. Gmur D., Siebelec G., Pecio M. Differences in accumulation of rare earth elements by plants cultivated in soil and substrates from industrial waste materials. *Plants*, 2025, 14(4), 589, doi: 10.3390/plants14040589.

Mój udział w przygotowaniu publikacji wynosił 5% i polegał na wykonaniu poszczególnych analiz laboratoryjnych.

2. Gmur D., Siebelec G., Pecio M. Chelate-induced accumulation of rare earth elements in plants grown on soil and ash-based growing media. *Current Agronomy*, 2025, 2, 1 – 17, doi: 10.2478/cag-2025-0001.

Mój udział w przygotowaniu publikacji wynosił 5% i polegał na wykonaniu poszczególnych analiz laboratoryjnych.

data. 25.02.2025.....

.....*Monika Pecio*.....
(podpis osoby składającej oświadczenie)

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP I PRZEGLĄD LITERATURY	10
1.1. Źródła pierwiastków ziem rzadkich w środowisku	11
1.2. Wpływ pierwiastków ziem rzadkich na środowisko i organizmy żywe	12
1.3. Fitoekstrakcja pierwiastków ziem rzadkich	13
1.4. Hiperakumulatory	14
1.5. Fitoekstrakcja indukowana	15
1.6. Wady i zalety stosowania fitoekstrakcji	15
1.7. Współczynnik translokacji (TF) i współczynnik biokoncentracji (BCF).....	16
2. HIPOTEZA I CEL BADAŃ	17
3. MATERIAŁ I METODY BADAWCZE	18
3.1. Określenie zawartości La, Ce, Eu i Gd w zanieczyszczonych glebach i odpadach.	18
3.2. Doświadczenia szklarniowe	18
3.3. Materiał badawczy.....	19
3.3.1. <i>Materiał roślinny</i>	19
3.3.2. <i>Podłoże</i>	20
3.4. Analiza właściwości chemicznych podłoża	22
3.5. Przebieg doświadczenia 1 – Określenie efektywności wybranych gatunków roślin w fitoekstrakcji REE.....	25
3.5.1. <i>Analiza roślin i podłoża</i>	26
3.6. Przebieg doświadczenia 2 – ocena efektywności zastosowania chelatów w fitoekstrakcji REE.....	26
3.6.1. <i>Analiza roślin i podłoża</i>	26
3.7. Obliczenia statystyczne	27
3.8. Współczynnik biokoncentracji (BCF) i współczynnik translokacji (TF).....	27
4. WYNIKI	29
4.1. Określenie zawartości REE w zanieczyszczonych glebach i odpadach.....	29
4.2. Ocena efektywności wybranych gatunków do fitoekstrakcji REE – doświadczenie 1	30
4.3. Ocena efektywności zastosowania chelatów w fitoekstrakcji REE – doświadczenie 2.....	39
5. DYSKUSJA	51
6. WNIOSKI	58

7. LITERATURA	60
8. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM	67
9. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM.....	69
10. KOPIE PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD ROZPRAWY DOKTORSKIEJ	71
11. OŚWIADCZENIA AUTORA I PROMOTORA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ	116

1. WSTĘP I PRZEGLĄD LITERATURY

Pierwiastki ziem rzadkich (REE – rare earth elements) to grupa 17 metali zdefiniowanych przez Międzynarodową Unię Chemii Czystej i Stosowanej (IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry), naturalnie występujących w skorupie ziemskiej. W oparciu o masę atomową REE dzielą się na lekkie pierwiastki ziem rzadkich (LREE) i ciężkie pierwiastki ziem rzadkich (HREE). LREE obejmują lantan (La), cer (Ce), prazeodym (Pr), neodym (Nd), promet (Pm), samar (Sm), europ (Eu), natomiast grupa HREE obejmuje: gadolin (Gd), terb (Tb), dysproz (Dy), holm (Ho), erb (Er), tul (Tm), iterb (Yb), lutet (Lu), itr (Y) (Dinh i in. 2022). REE nie są tak „rzadkie” jak sugeruje ich nazwa. W rzeczywistości obfitość tych metali w skorupie ziemskiej jest wyższa niż srebra (Ag) i rtęci (Hg), przy czym zawartość Ce jest wyższa niż miedzi (Cu). Ze względu na swoje właściwości są szeroko stosowane w wielu dziedzinach, takich jak przemysł, nowoczesne technologie, rolnictwo czy medycyna. W ostatnich latach wzrósł poziom zapotrzebowania na REE w tak zwanych zielonych technologiach. Aktualnie REE stosuje się w produkcji katalizatorów, w reaktorach jądrowych, turbinach wiatrowych czy produkcji silników pojazdów elektrycznych (Liu i in. 2023). Stale wzrastający popyt w nowoczesnym przemyśle wpłynął na wzrost działalności górniczej, czego skutkiem jest uwolnienie REE do środowiska. Z kolei wzrastający poziom omawianych pierwiastków w środowisku może niekorzystnie wpływać na ekosystem i potencjalnie zagrażać zdrowiu organizmów żywych (Dinh i in. 2022).

Chiny są odpowiedzialne za 97% światowej podaży REE, dodatkowo w ostatnich latach znacznie obniżyły poziom eksportu. Przyczyniło się to do wzrostu cen OZE, powodując niepewność na światowych rynkach zaawansowanych technologii. Naturalne rezerwy pierwiastków ziem rzadkich są skoncentrowane w niewielkiej liczbie krajów (Chiny, Brazylia, Rosja, USA, Demokratyczna Republika Konga) (Masarri, Ruberti 2013). Złóża odkryte w Szwecji nie są jeszcze eksploatowane. Z uwagi na rosnące zapotrzebowanie i ograniczoną dostępność, zależną od sytuacji geopolitycznej, REE zostały sklasyfikowane przez Unię Europejską jako materiały o krytycznym znaczeniu (CRM – critical raw materials).

REE posiadają szeroki zakres właściwości: jądrowe, chemiczne, katalityczne, metalurgiczne, magnetyczne, optyczne i elektryczne. Wskutek tego stale rośnie skala i zakres ich wykorzystania. REE znalazły swoje zastosowanie w takich obszarach jak elektronika (telefony komórkowe, ekrany telewizyjne, skanery bagażu, systemy napędowe statków), produkcja (stopy metali, wskaźniki naprężeń, magnesy o dużej wytrzymałości, proszki polerujące), technologia (szkło optyczne, lasery, pamięć komputerowa), nauki medyczne (lampy rentgenowskie, środki kontrastujące, obrazowanie w medycynie nuklearnej, lasery stomatologiczne i medyczne), energia odnawialna (turbiny wiatrowe, katalizatory biopaliw, samochody hybrydowe, akumulatory nowej generacji), rolnictwo (nawozy fosforowe, dodatki do pasz dla zwierząt hodowlanych) (Balaram 2019, Koltun i in. 2019).

Z uwagi na możliwości zanieczyszczenia środowiska tymi pierwiastkami przy ich coraz powszechniejszym wykorzystaniu, a także z przyczyn ekonomicznych i gospodarczych, poszukuje się innowacyjnych metod umożliwiających odzysk REE ze środowiska. Do takich metod zalicza się techniki bioremediacyjne. Jedną z nich jest fitoremediacja. Fitoremediacja to technologia wykorzystująca gatunki roślin do przywracania naturalnego stanu terenów skażonych (Muthusaravann i in. 2018). Zasadniczo istnieją dwie główne strategie zmniejszania poziomu lub skutków zanieczyszczeń przez metale w glebach: stabilizacja obszaru (wykorzystuje techniki fitostabilizacji) oraz „oczyszczanie” terenu (wykorzystuje techniki fitoekstrakcji i fitowoltaizacji). W niniejszych badaniach skupiono się na procesie fitoekstrakcji, czyli technice wykorzystującej różne gatunki roślin do usuwania metali z zanieczyszczonego podłoża poprzez akumulację w swoich organach (Suman i in. 2018).

1.1. Źródła pierwiastków ziem rzadkich w środowisku

Dostępność REE w środowisku naturalnym jest w dużym stopniu zależna od procesów zachodzących na powierzchni Ziemi. Bezpośredni wpływ na obecność metali mają takie zjawiska, jak wietrzenie materiału macierzystego skorupy ziemskiej zachodzące na skutek procesów hydrogeologicznych, geochemicznych oraz biologicznych, a także ruchów na powierzchni skorupy ziemskiej, do których zaliczane są aktywność wulkaniczna i przepływ wód gruntowych (Adeel i in. 2019).

REE naturalnie występują zarówno w pierwotnych, jak i wtórnych rudach mineralnych. Rudy pierwotne to rudy powstałe w skorupie ziemskiej w wyniku procesów magmowo-hydrotermalnych, zaliczane są tutaj głównie karbonatyt, alkaiczne skały magmowe oraz złoża hydrotermalne. Natomiast rudy wtórne są wynikiem wietrzenia i procesów osadowych powstałych na powierzchni Ziemi. Ta grupa obejmuje przede wszystkim gliny jonowe, osady placerowe i osady morskie (Liu i in. 2022). REE można znaleźć w ponad 200 różnych minerałach. Najczęściej wydobywanymi są: monazyt, bastnäsyty i ksenotym, stanowiące około 95% wszystkich zasobów mineralnych zawierających REE (Zhou i in. 2017)

REE mogą być uwalniane do środowiska na skutek czynników antropogenicznych. Ze względu na szerokie spektrum wykorzystywania i stale wzrastający popyt na metale są one uwalniane do ekosystemów. Głównym źródłem zanieczyszczeń są aktywne oraz opuszczone kopalnie. Działalność górnicza, czyli cięcie, wiercenie, transport, składowanie czy przetwarzanie może przyczynić się również do uwalniania pyłu zawierającego REE, a także innych toksycznych metali i chemikaliów do powietrza, zbiorników wodnych i otaczających gleb (Balaram 2019). Na przykład kopalnia Baiyun Obo w Baotou (Chiny), która jest największym obszarem wydobywczym rudy żelaza i REE na świecie (odpowiada za 45% światowej produkcji REE), ma istotny wpływ na zanieczyszczenie gleb i wód znajdujących się w pobliżu (Adeel i in. 2019; Zhao i in. 2023). Zwiększona kumulacja REE w środowisku może być również obecna w regionach obok innych stref zanieczyszczonych, na przykład dużych miast czy ośrodków przemysłowych. Dodatkowo wykazano zwiększoną zawartość metali w regionach o intensywnym rolnictwie. Stosowanie nawozów fosforowych, które mogą zawierać istotne ilości REE, przyczynia się do uwalniania metali do środowiska. W Chinach REE są celowo stosowane jako wzbogacenie nawozów ze względu na to, że metale mogą wpływać pozytywnie na wzrost kiełkowania nasion, wzrost korzeni czy odporność roślin (Ramos i in. 2016).

1.2. Wpływ pierwiastków ziem rzadkich na środowisko i organizmy żywe

Koncentracja REE w glebach może mieć istotne znaczenie, ponieważ poprzez swoją obecność w ekosystemie mogą one oddziaływać na ludzi, inne organizmy żywe, w tym rośliny. Nadmierna zawartość pierwiastków w glebach może mieć poważne

konsekwencje dla otaczającego środowiska, wliczając w to jakość wód gruntowych i produktów rolnych (Adeel i in. 2019). REE wykazują długi okres półtrwania w glebie, co sprzyja ich akumulacji w łańcuchu pokarmowym i toksyczności dla organizmów lądowych. Biodostępność oraz toksyczność metali w środowisku lądowym jest warunkowana cechami gleb i samych pierwiastków (Egler i in. 2022). Wykazano, że REE może negatywnie wpływać na poziom inteligencji mózgu, co może ostatecznie prowadzić do utraty pamięci. REE mogą również przedostać się do łożyska i krwi w czasie ciąży, co może prowadzić do wad wrodzonych (Wu i in., 2013, Adeel i in., 2019). REE mogą prowadzić do efektu zwanego hormezą. W niskich dawkach mogą stymulować wzrost roślin, natomiast w większych prowadzić do zahamowania ich wzrostu i rozwoju. Przykładowo wykazano, że dodatek La i Ce w niższym stężeniu wywiera pozytywny wpływ na pobieranie i gromadzenie składników odżywczych u pszenicy (*Triticum aestivum* L.), natomiast wysokie stężenia zahamowały elongację korzeni (Hy i in. 2002).

1.3. Fitoekstrakcja pierwiastków ziem rzadkich

Rośliny mogą pobierać i gromadzić metale w tkankach nadziemnych i podziemnych. Stężenie REE w tkankach jest zależne od wielu czynników, takich jak właściwości gleby (zawartość materii organicznej, pH, występowanie potencjalnie toksycznych metali), organiczne i nieorganiczne ligandy czy gatunek rośliny (Rabbani i in. 2024).

Proces pobierania i akumulacji metali przez roślinę zachodzi etapowo. Pierwszym etapem jest solubilizacja metalu z matrycy glebowej, zakwaszenie obszaru ryzosfery oraz wydzielanie ligandów. Następnie zachodzi proces absorpcji pierwiastków przez korzenie oraz transport do pędów, dystrybucja między tkankami i ostatni etap, czyli sekwestracja. Pierwiastki ziem rzadkich w roślinach mogą być magazynowane w różnych tkankach, do których należą: mezofil, epiderma, ksylem i inne miejsca, w których REE nie wywierają toksycznego wpływu na ważne procesy komórkowe. Sekwestracja, której wynikiem jest akumulacja metali, zachodzi w wakuoli, czyli w miejscu do którego metal lub jego kompleks z ligandem jest transportowany przez błonę wakuoli (Oprae i in. 2021; Shan i in. 2003; El-Remady 2010).

W celu zaplanowania fitoremediacji terenu skażonego przez metale, początkowo zostaje wybrany obszar, w którym metale występują w podwyższonym stężeniu. Do takich miejsc mogą należeć przykładowo tereny górnicze bądź przemysłowe. Następny etap obejmuje wybór odpowiednich gatunków roślin oraz dodatków do gleby odpowiedzialnych za optymalizację pobierania metali przez rośliny i ich ogólny wzrost i rozwój. Takimi dodatkami mogą być: nawozy, fitohormony, egzogenna materia organiczna. Ostatnim krokiem jest zbiór upraw. Uzyskaną biomasę poddaje się następnie takim procesom jak: kompostowanie, obróbka termiczna lub wykorzystuje w celu odzysku pierwiastków (Grobela i in. 2010; Krzciuk 2019).

Fitoekstrakcja może wykorzystywać gatunki roślin o naturalnej zdolności pobierania i akumulowania wyższych stężeń metali w swoich tkankach (hiperakumulatory), bez wywierania na nie toksycznego wpływu i jest to tak zwana fitoekstrakcja ciągła. Drugą możliwością jest zastosowanie metody fitoekstrakcji indukowanej, która jest wspomagana chemicznie (Tahmasbian, Safari Sinegani 2016).

1.4. Hiperakumulatory

Hiperakumulatory to rośliny gromadzące duże ilości metali w swoich tkankach dzięki efektywnej translokacji z korzenia do pędu, co powoduje zmniejszanie się zawartości metali w podłożu. Zazwyczaj akumulują więcej pierwiastków w pędach w porównaniu do korzeni. Dodatkowo takie rośliny, gdy są uprawiane na obszarach o wysokich stężeniach toksycznych metali nie wykazują widocznych objawów stresu i zachowują swoje czynności metaboliczne i funkcje fizjologiczne. Aby dany gatunek rośliny mógł zostać zaklasyfikowany jako hiperakumulator, musi charakteryzować się zdolnością do gromadzenia ponad $10\,000\text{ mg kg}^{-1}$ Mn, Zn, 1000 mg kg^{-1} As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Se lub 100 mg kg^{-1} Cd (Sytar i in. 2020).

Aktualnie, ponad 20 gatunków roślin zostało zakwalifikowanych jako naturalne hiperakumulatory REE. Są to rośliny reprezentowane przez pięć rodzin: *Phytolaccaceae* (na przykład: *Phytolacca americana*, *P. icosandra*), *Gleicheniaceae* (na przykład: *Dicranopteris linearis*), *Juglandaceae* (na przykład: *Carya cathayensis*, *C. glabra*, *C. tomentosa*), *Blechnaceae* (na przykład: *Blechnum niponicum*, *Woodwardia japonica*),

Thelypteridaceae (na przykład: *Pronephrium simplex*, *P. triphyllum*) (Krzciuk 2015; Jalali, Lebeau 2021).

Wykazano, że gatunek paproci *Blechnum orientale* jest zdolny do akumulowania wysokich stężeń REE do 1022 mg kg⁻¹ (van der Ent i in. 2021). Innym przykładem paproci hiperakumulującej REE jest *Dicranopteris linearis*. W badaniach Khan i in. (2017) doniesiono, że *D. linearis* jest zdolna do bioakumulacji pierwiastków ziem rzadkich do 0,31 mg kg⁻¹ oraz 0,53 mg kg⁻¹, odpowiednio w korzeniach i liściach. Z kolei w innych badaniach naukowcy dowiedli, że *D. linearis* jest w stanie akumulować od 105,1 mg kg⁻¹ do 3956,6 mg kg⁻¹ LREE (La, Ce, Pr, Ne) w liściach (Shan i in. 2003).

1.5. Fitoekstrakcja indukowana

W celu zwiększenia wydajności fitoekstrakcji stosuje się związki chemiczne lub naturalne, które mają za zadanie desorbować toksyczne metale i ułatwiać proces pobierania ich przez korzenie. Przykładem takich związków są chelaty.

Metale w glebie występują jako minerały lub są zaadsorbowane przez składniki gleby, co utrudnia ich pobieranie przez korzenie roślin. Chemicznie wspomagana fitoekstrakcja wykorzystuje związki chelatujące, tworzące kompleksy z metalami w celu zwiększenia ich biodostępności w strefie ryzosfery oraz pobierania przez rośliny. Uważa się, że kompleks metal - chelat przemieszcza się następnie z korzeni do pędów poprzez transport ksylemu pod wpływem transpiracji (Harmon 2022).

Jako chelaty wykorzystuje się: syntetyczne APCA (kwasy aminopolikarboksylowe): EDTA (kwas etylenodiaminotetraoctowy), kwas etylenobis[oksyetylenotrinitrilo]tetraoctowy (EGTA), kwas [o,o]: etylenodiamino-di[(orto-hydroksyfenylo)octowy] (EDDHA), kwas N-(2-hydroksyetylo)iminodioctowy (HEIDA) oraz naturalne APCA: etylenodiaminodibursztynian (EDDS), kwas nitrylotrioctowy (NTA), naturalne kwasy organiczne o niskiej masie cząsteczkowej (NLMWOA), substancje humusowe (HS). Metale skompleksowane z wyżej wymienionymi ligandami są bardziej dostępne dla korzeni roślin (Salt i in., 1995; Jabeen i in., 2009).

1.6. Wady i zalety stosowania fitoekstrakcji

Główną zaletą stosowania fitoekstrakcji do remediacji obszarów zanieczyszczonych metalami jest to, że jest to technika oparta na naturalnych procesach,

nie wywierająca dużego wpływu na środowisko. Dodatkowym atutem jest niski koszt przeprowadzenia procesu. Otrzymana biomasa zawierająca wyższe stężenia metali w swoich tkankach może zostać wykorzystana do odzysku pierwiastków. Dodatkowo, sadzenie roślinności na skażonym terenie pozytywnie wpływa na zmniejszanie erozji powodowanej przez wiatr i wodę (Muthusaravanan i in. 2018).

Fitoekstrakcja ma jednak również pewne ograniczenia. W technice bardzo ważny jest dobór odpowiednich gatunków roślin, uwzględniający, m. in. wielkość biomasy czy odporność na toksyczność obecnych w podłożu metali. Ze względu na krótkie korzenie rośliny mogą pobierać tylko zanieczyszczenia znajdujące się w pobliżu powierzchni. Dodatkowo rośliny, które akumulują w swoich tkankach metale mogą przedostać się do łańcucha pokarmowego. Czas trwania procesu oczyszczania gruntu jest bardzo długi, może trwać od kilku do kilkudziesięciu lat (Muthusaravanan i in. 2018, Mahar i in. 2020).

1.7. Współczynnik translokacji (TF) i współczynnik biokoncentracji (BCF)

Współczynnik translokacji (TF) oraz współczynnik biokoncentracji (BCF) są stosowane do opisu właściwości bioakumulacyjnych roślin. Wskaźnik TF określa stosunek zawartości metali w pędach roślin do ich zawartości w korzeniach. Rośliny o wyższych wartościach TF mają większą zdolność do przenoszenia metali z korzeni do pędów. W przypadku akumulatorów danej grupy metali zaleca się, aby TF był wyższy niż 1, wówczas takie rośliny nazywane są hiperakumulatorami (Dinh i in. 2022). Wskaźnik BCF jest opisywany jako stosunek zawartości metalu w tkankach rośliny do zawartości metalu w glebie lub substracie. Zalecane jest, aby oba współczynniki były wyższe niż 1, wówczas rośliny nazywane są hiperakumulatorami. Jeśli $TF > 1$ i $BCF < 1$, roślina może być traktowana jako fitoekstraktor, a w przypadku gdy $TF < 1$ i $BCF > 1$, roślina może być potencjalnie wykorzystywana jako fitostabilizator (Takarina, Pin 2017).

2. HIPOTEZA I CEL BADAŃ

Hipoteza badawcza

W hipotezie badawczej założono, że alternatywnym źródłem pierwiastków ziem rzadkich (REE) mogą być składowiska różnych typów odpadów przemysłowych. W Polsce nie występują istotne złoża REE z punktu widzenia gospodarczego. Zastosowanie odpowiednich gatunków roślin oraz dodatków ułatwiających translokację REE z podłoża do tkanek roślin może przyczynić się do optymalizacji metod ich (fito)odzysku ze środowiska.

Cel główny rozprawy doktorskiej to:

Określenie efektywności fitoekstrakcji pierwiastków ziem rzadkich (REE) z gleby oraz odpadów przemysłowych przez wybrane gatunki roślin.

Cele szczegółowe to:

- Określenie zawartości REE na przykładzie: La, Ce, Eu i Gd w odpadach przemysłowych oraz reprezentatywnej grupie gleb.
- Określenie różnic w akumulacji La, Ce, Eu i Gd przez wybrane gatunki roślin uprawianych na glebie i podłożach, których głównym komponentem były odpady przemysłowe.
- Określenie poziomu akumulacji La, Ce, Eu i Gd przez wybrane gatunki roślin rosnących na wybranych wariantach podłoża po doglebowym zastosowaniu wybranych chelatów.

3. MATERIAŁ I METODY BADAWCZE

3.1. Określenie zawartości La, Ce, Eu i Gd w zanieczyszczonych glebach i odpadach.

Etap pierwszy obejmował charakterystykę próbek reprezentowanych przez takie typy materiałów, jak: gleby o wyższej zawartości REE, pohutnicze odpady poflotacyjne i żużlowe, popioły lotne z elektrowni, a także osady ściekowe z komunalnych oczyszczalni ścieków, jako potencjalne komponenty podłoża do wykorzystania w procesie fitoekstrakcji REE. Przeanalizowano próbki odpadów z 23 elektrowni lub elektrociepłowni, 4 spalarni odpadów przemysłu meblarskiego i papierniczego, 4 składowisk odpadów z hutnictwa cynku i ołowiu. Wykonano również analizy próbek gleby pobranych w 17 lokalizacjach w dwóch regionach, w których założono, na podstawie dostępnych danych, podwyższoną zawartość REE: rejon Piekar Śląskich (woj. śląskie) oraz rejon Srebrnej Góry (woj. dolnośląskie).

Materiały zostały scharakteryzowane m. in. pod względem zawartości REE (La, Ce, Eu, Gd) oraz zawartości pierwiastków śladowych, odczynu pH, zawartości C i N. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki dotyczące zawartości REE. Wyniki nie zostały dotychczas opublikowane, badania były prowadzone na potrzebę selekcji materiału do kolejnych etapów doświadczenia.

Próbki materiałów zostały wysuszone, zmielone oraz przesiane przez sito o oczkach 2 mm. Tak przygotowany materiał (0,5 g) został poddany rozkładowi w wodzie królewskiej (stosunek 3:1 odpowiednio HCl : HNO₃) w naczyniach teflonowych PFA w systemie mikrofalowym (MarsXpress; CEM Corp., Matthews, NC, USA). Próbki analizowano przy użyciu ICP-MS (Agilent 7500c, Santa Clara, CA, USA).

3.2. Doświadczenia szklarniowe

Doświadczenia zostały przeprowadzone w hali wegetacyjnej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach [51°24'59"N, 21°58'09"E] (rysunek 1). Doświadczenie 1 (określenie efektywności wybranych gatunków roślin w fitoekstrakcji REE) było prowadzone w okresie maj – sierpień 2022 roku, natomiast doświadczenie 2 (ocena efektywności zastosowania chelatów w fitoekstrakcji REE) w okresie maj – wrzesień 2023 roku.



Rysunek 1 Doświadczenie 1 i doświadczenie 2 (odpowiednio od lewej) na hali wegetacyjnej IUNG – PIB w Puławach.

3.3. Materiał badawczy

3.3.1. Materiał roślinny

W doświadczeniu 1 badania prowadzono na następujących gatunkach roślin:

- krwawnik pospolity (*Achillea millefolium* L.),
- maruna bezwonna (*Tripleurospermum maritimum* (L.) W.D.J. Koch),
- kostrzewa trzcinowa (*Festuca arundinacea* Schreb.),

- nagietek (*Tagetes* sp.),
- kukurydza (*Zea mays*),
- gorczyca biała (*Sinapsis alba*),
- koniczyna łąkowa (*Trifolium pratense* L.),
- narecznica czerwonozawijkowa (*Dryopteris erythrosora* (D.C.Eaton) Kuntze)

Na podstawie wyników doświadczenia nr 1, do doświadczenia nr 2 wybrano trzy gatunki roślin:

- *A. millefolium* L.,
- *T. pratense* L.,
- *Dryopteris erythrosora* (D.C.Eaton) Kuntze

3.3.2. Podłoża

W doświadczeniu 1 eksperyment składał się z czterech wariantów substratów, w których głównymi komponentami były:

- gleba pobrana w Srebrnej Górze w województwie dolnośląskim (50°34'32'' N, 16°39'35'' E),
- popiół z przemysłu papierniczego w Ostrołęce,
- popiół z elektrowni z Górnego Śląska,
- odpad poflotacyjny z huty cynku.

W doświadczeniu 2 wykorzystano dwa warianty substratów, w których głównymi komponentami były:

- gleba pobrana na terenie RZD Kępa, wzbogacona LaCl_3 , CeCl_3 , EuCl_3 , GdCl_3 (jako roztwór wodny w dawce 100 mg każdego pierwiastka na doniczkę),
- popiół z elektrowni z Górnego Śląska.

Sole REE wprowadzono do gleby z uwagi na stosunkowo niskie zawartości tych pierwiastków w zgromadzonych glebach, oraz dla umożliwienia zbadania reakcji roślin, transportu REE do części nadziemnych oraz wpływu chelatów przy wysokich zawartościach REE.

Aby zapewnić w podłożach odpowiednie warunki dla rozwoju roślin, tzn. dostarczyć materię organiczną oraz obniżyć poziom pH, do substratów bazowych dodano kompost i torf. Kompost pochodził z przedsiębiorstwa GWDA w Pile, który został wyprodukowany na bazie osadów ściekowych oraz selektywnie zebranych zielonych odpadów komunalnych, rolniczych i spożywczych. Zastosowany kompost posiada status dopuszczonego do rynku jako środek poprawiający właściwości gleby. Charakteryzował się 30,2% zawartością materii organicznej i pH 6,2. Skład podłoży (procent wagowy) został przedstawiony w tabeli 1 i 2. Doświadczenie 1 było prowadzone w doniczkach zawierających po 1 kg podłoża, natomiast doświadczenie 2 w doniczkach zawierających 2 kg podłoża 1 oraz 1,66 kg podłoża 2 (ze względu na objętość końcową podłoża).

Tabela 1 Skład podłoży użytych w doświadczeniu szklarniowym 1 (procent wagowy) (Gmur i in. 2025a)

	Gleba	Popiół	Odpad poflotacyjny	Kompost	Torf
Podłoże 1	95%	-	-	5%	-
Podłoże 2	-	30%	-	20%	50%
Podłoże 3	-	30%	-	20%	50%
Podłoże 4	-	-	40%	20%	40%

Tabela 2 Skład podłoży użytych w doświadczeniu szklarniowym 2 (procent wagowy) (Gmur i in. 2025b)

	Gleba	Popiół	Kompost	Torf
Podłoże 1	95%	-	5%	-
Podłoże 2	-	30%	20%	50%

3.4. Analiza właściwości chemicznych podłoża

Przed doświadczeniem pobrano losowo próbki każdego z materiałów wchodzących w skład podłoży i wysuszone w suszarce. Następnie próbki zmielono, przesiano przez sito o oczkach 2 mm. Tak przygotowane próbki poddano analizom chemicznym: zmierzono pH oraz przewodność elektryczną właściwą metodą potencjometryczną w zawiesinie wodnej, całkowitą zawartość azotu i węgla na analizatorze CN (Elementar, vario Macro 8 cube) oraz oznaczono zawartość pierwiastków (analogicznie jak w punkcie 3.1.). Otrzymane wyniki z analiz zostały przedstawione w tabeli 3 (doświadczenie 1) i Tabeli 4 (doświadczenie 2).

Tabela 3 Zawartość pierwiastków (mg kg^{-1}) oraz wybrane właściwości chemiczne komponentów użytych w doświadczeniu 1 (Gmur i in. 2025a)

Pierwiastek	Gleba	Popiół z przemysłu papierniczego	Popiół z elektrowni	Odpad poflotacyjny
Li	2,4	19,2	11,3	3,2
Be	0,1	2,1	0,8	1,5
Al	3674	59437	15669	10064
V	10,5	174,1	35,5	54,7
Cr	7,6	104,7	46,6	41,9
Mn	143	447	631	6228
Fe	4689	54200	14031	236248
Co	1,6	30,5	15,0	14,7
Ni	4,3	85,1	53,4	70,3

Cu	3,1	48,4	498,03	16,2
Zn	14,3	113,7	892,72	126228
As	2,0	22,8	9,3	2724,46
Se	0,1	23,1	1,1	12,2
Sr	0,5	30,9	36,1	3,1
Mo	0,1	2,9	3,7	13,7
Ag	0,1	0,2	4,7	39,8
Cd	0,1	5,2	11,2	573,6
Sn	0,1	2,0	22,6	0,5
Sb	0,0	0,4	16,4	7,2
Ba	19,3	317,9	797,7	50,5
La	6,2	67,0	8,9	7,0
Ce	13,1	120,4	18,6	16,6
Eu	0,1	2,27	0,5	0,2
Gd	0,9	12,45	1,9	1,5
Tl	0,05	0,64	0,4	19,4
Pb	9,3	40,7	117,4	21782,9
Bi	b,d,	0,7	6,3	0,1
Na	21,1	285	8770	62,8
Mg	651	4235	10300	16277
K	1209	733	18455	1721
Ca	987	151265	130492	37220
pH in H ₂ O	6,6	7,9	11,2	8,5
EC [μS/cm]	146	1238	11080	200

Total nitrogen [% N]	0,07	0,05	0,02	0,12
Total carbon [% C]	0,7	3,7	1,7	20,6

Tabela 4 Zawartość pierwiastków (mg kg⁻¹) oraz wybrane właściwości chemiczne komponentów użytych w doświadczeniu 2 (Gmur i in. 2025b)

Element	Soil	Power plant ash
Li	3,25	11,31
Be	0,19	0,83
Al	4967,47	15669,29
V	14,19	35,53
Cr	10,59	46,60
Mn	225,16	6313,97
Fe	7244,23	14030,51
Co	3,20	15,05
Ni	7,58	53,49
Cu	6,75	498,03
Zn	48,39	892,71
As	2,71	9,30
Se	0,19	1,08
Sr	1,08	36,12
Mo	0,24	3,69
Ag	0,14	4,77
Cd	0,24	11,17
Sn	0,04	22,68

Sb	0,04	16,48
Ba	31,73	797,73
La	8,42	8,90
Ce	18,52	18,65
Eu	0,24	0,54
Gd	1,47	1,91
Tl	0,04	0,39
Pb	12,91	117,42
Bi	0,09	6,29
Na	40,31	8769,68
Mg	941,25	10300,19
K	1768,18	18454,72
Ca	1167,80	130492,47
pH in H ₂ O	7,13	8,55
EC [μS/cm]	99	11080
Total nitrogen [%N]	0,09	0,12
Total carbon [%C]	1,19	20,60

3.5. Przebieg doświadczenia 1 – Określenie efektywności wybranych gatunków roślin w fitoekstrakcji REE

W doświadczeniu wykorzystano osiem gatunków roślin oraz cztery warianty podłoży. Uwzględniono dwa czynniki: rodzaj podłoża oraz gatunek rośliny. Każdy wariant doświadczenia był realizowany w trzech powtórzeniach. Okres trwania eksperymentu wynosił 3 miesiące, przy czym wcześniej przez okres 2 tygodni doniczki zostały wypełnione wymieszanymi substratami i pozostawione w celu ustabilizowania właściwości chemicznych podłoża. Rośliny były podlewane wodą destylowaną zgodnie z aktualnymi potrzebami.

3.5.1. Analiza roślin i podłoża

Po upływie dwóch miesięcy od zasiania/ zasadzenia, rośliny zostały ścięte, a korzenie delikatnie oddzielone od podłoża. Tak podzielone części (części nadziemne i części podziemne) roślin zostały opłukane wodą z kranu, a następnie wodą destylowaną i wysuszone w suszarce w 50°C przez kolejne 2 dni. Następnie wysuszone partie roślin zostały zważone. Wysuszone rośliny zostały zmielone w młynku elektrycznym i poddane analizom laboratoryjnym.

Oddzielnie części nadziemne i podziemne zostały (0,5 g) zostały poddane trawieniu w HNO₃ w naczyniach teflonowych PFA w systemie mikrofalowym (MarsXpress; CEM Corp., Matthews, NC, USA). Tak przygotowane próbki, rozcieńczono w wodzie w stosunku 1:10 (próbka : woda) i analizowano przy użyciu ICP-MS (Agilent 7500c, Santa Clara, CA, USA). Jako certyfikowany materiał odniesienia zastosowano mąkę sojową (INCT-SBF-4) i mieszankę ziół (INCT-MPH-2). Próbki podłoży pobrane po usunięciu roślin, przygotowane analogicznie jak w punkcie 3.1. poddano analizie pH w zawiesinie wodnej w stosunku 1:3 (próbka:woda).

3.6. Przebieg doświadczenia 2 – ocena efektywności zastosowania chelatów w fitoekstracji REE

W eksperymencie wykorzystano trzy gatunki roślin oraz dwa warianty podłoży. Doniczki zostały wypełnione wymieszanymi substratami jeden miesiąc przed zasianiem/ zasadzeniem roślin, w celu ustabilizowania właściwości chemicznych podłoży. Po wschodzie roślin do substratów zostały dodane chelaty: CA, EGTA, EDTA w stężeniach 5 mM lub 10 mM na kg podłoża. Każda kombinacja roślina × substrat × chelat została wykonana w 3 powtórzeniach. Rośliny były podlewane wodą destylowaną zgodnie z aktualnymi potrzebami i panującymi warunkami temperaturowymi.

3.6.1. Analiza roślin i podłoża

Po upływie pięciomiesięcy od zasiania/ zasadzenia rośliny zostały ścięte, a korzenie delikatnie oddzielone od podłoża. Dalsze postępowanie było analogiczne do opisanego w punkcie 3.5.1.

3.7. Obliczenia statystyczne

Ocenę statystyczną otrzymanych wyników wykonano za pomocą programu Statistica v. 13.1. Wyniki poddane analizie reprezentowały 3 powtórzenia każdego wariantu. Doświadczenie 1 obejmowało następujące czynniki: gatunek rośliny i rodzaj podłoża. Natomiast doświadczenie 2: chelat i gatunek rośliny w obrębie podłoża.

Wykonano analizę wariancji (ANOVA) dla układów dwuczynnikowych. W analizie wariancji założono, że:

- Zmienne są zależne, ilościowe,
- Normalność rozkładu zmiennych zależnych w obiektach (normalność rozkładu sprawdzano za pomocą testu Shapiro-Wilka),
- Występuje równość wariancji.

Istotność różnic oceniono przy wykorzystaniu testu Tukey'a (poziom istotności $\alpha=0,05$). Uzyskane wyniki badań opracowano i zestawiono w formie tabelarycznej i graficznej.

3.8. Współczynnik biokoncentracji (BCF) i współczynnik translokacji (TF)

Dla obu doświadczeń obliczono współczynnik biokoncentracji (BCF) i współczynnik translokacji (TF). Współczynnik BCF jest liczony jako stosunek zdolności rośliny do odzysku metali z gleby lub substratu. Jest określany wzorem:

$$BCF = C_{\text{tkanka roślinna}} / C_{\text{gleba/podłoże}}$$

Gdzie,

$C_{\text{tkanka roślinna}}$ – stężenie metalu w zebranych tkankach roślinnych,

$C_{\text{gleba/podłoże}}$ – stężenie metalu w glebie lub podłożu.

W doświadczeniu BCF był wartością wyliczoną, stężenie REE zostało wyliczone na podstawie proporcji (Tabela) z zawartości metali w komponentach substratów.

Współczynnik translokacji (TF) to stosunek stężenia metalu w częściach nadziemnych rośliny do części podziemnych. Jest liczony na podstawie wzoru:

$$TF = C_{pędy} / C_{korzenie}$$

Gdzie,

$C_{pędy}$ – stężenie metalu w pędach/ częściach nadziemnych roślin,

$C_{korzenie}$ – stężenie metalu w korzeniach/ częściach podziemnych roślin.

4. WYNIKI

4.1. Określenie zawartości REE w zanieczyszczonych glebach i odpadach

Wyniki dotyczące zawartości badanych REE w odpadach i glebach zostały zamieszczone w tabeli 5. Z otrzymanych danych wynika, że najwyższą zawartość w badanych materiałach otrzymano dla Ce (Popiół Wapienny – Bełchatów, 232,97 mg kg⁻¹). Ogólnie rzecz biorąc, wyższe zawartości REE otrzymano dla odpadów typu popiół lotny i gleby w porównaniu z osadami ściekowymi i żużłami. Zakres REE w badanych glebach wahał się w przedziale 1,59 – 50,68 mg kg⁻¹, odpowiednio dla gleby z Piekar Śląskich (Eu) i gleby z Srebrnej Góry (La). Natomiast w popiołach lotnych 0,61 – 232,97 mg kg⁻¹.

Tabela 5 Średnie zawartości La, Ce, Eu i Gd w odpadach i glebach (mg kg⁻¹)

	La	Ce	Eu	Gd
Popiół ze współpalania El. Dolna Odra	34,05	73,71	1,49	7,68
Popiół lotny El. Opole	19,28	45,27	1,19	5,10
Popiół lotny El. Rybnik	17,72	40,35	1,17	5,01
Popiół lotny Ec.Bydgoszcz	24,53	54,42	1,61	6,87
Popiół lotny Ec.Gdańsk	17,39	39,29	1,08	4,76
Popiół lotny Ec.Gdynia	34,06	73,65	2,03	8,33
Popiół lotny Ec. Pomorzany	24,87	55,96	1,95	7,80
Popiół lotny Ec.Siechnice	21,16	46,04	1,25	5,36
Popiół lotny Ec.Wrocław	24,44	59,13	1,59	6,38
Popiół Wapienny-Bełchatów	116,19	232,97	4,61	23,11
Popiół lotny Kraków	27,42	61,26	1,38	6,79
Popiół lotny fluidalny Turów	88,78	170,98	3,00	13,61
Popiół lotny Turów	89,26	166,07	2,47	12,28
Popiół lotny Ostrołęka	44,69	85,09	2,03	7,77

Popiół lotny z Górnego Śląska	15,83	30,76	0,61	2,27
Żużel Ec. Gdańsk	9,02	21,60	0,51	2,30
Żużel Ec. Gdynia	5,56	12,71	0,27	1,38
Żużel Ec. Kraków	12,75	28,45	0,71	3,10
Żużel Składowisko Kraków-Niwa	18,42	41,78	1,10	5,00
Żużel Ec. Wrocław	14,81	32,78	0,88	3,66
Żużel El. Opole	13,04	28,71	0,79	3,38
Żużel El. Rybnik	10,28	23,75	0,62	2,75
Hałda ZP Kamień K/Długołęki	19,88	44,60	1,31	5,42
MPŻ Gdańsk-Letnica	17,22	36,78	1,04	4,47
Odpad poflotacyjny z huty cynku	7,89	17,50	0,34	1,69
Osad ściekowy Puławy	13,44	7,91	0,23	0,48
Osad ściekowy Pniewy	2,78	4,06	0,12	0,51
Gleba Piekary Śląskie	45,10	1,59	19,18	42,95
Gleba Srebrna Góra	50,68	1,98	23,46	46,80
Min	2,78	1,59	0,12	0,48
Max	116,19	232,97	23,46	46,80
Mediana	19,28	40,35	1,19	5,10

4.2. Ocena efektywności wybranych gatunków do fitoekstracji REE – doświadczenie 1

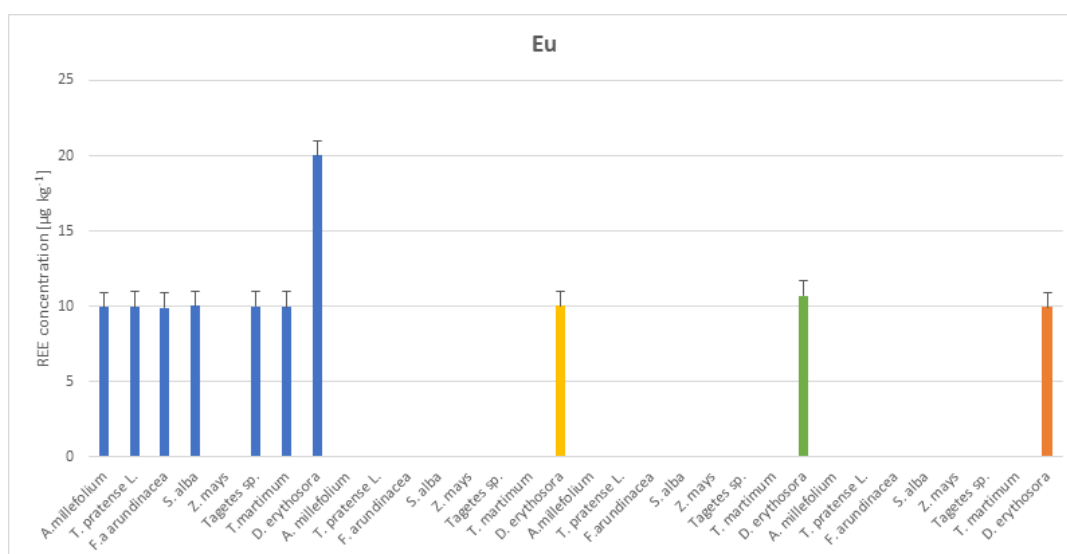
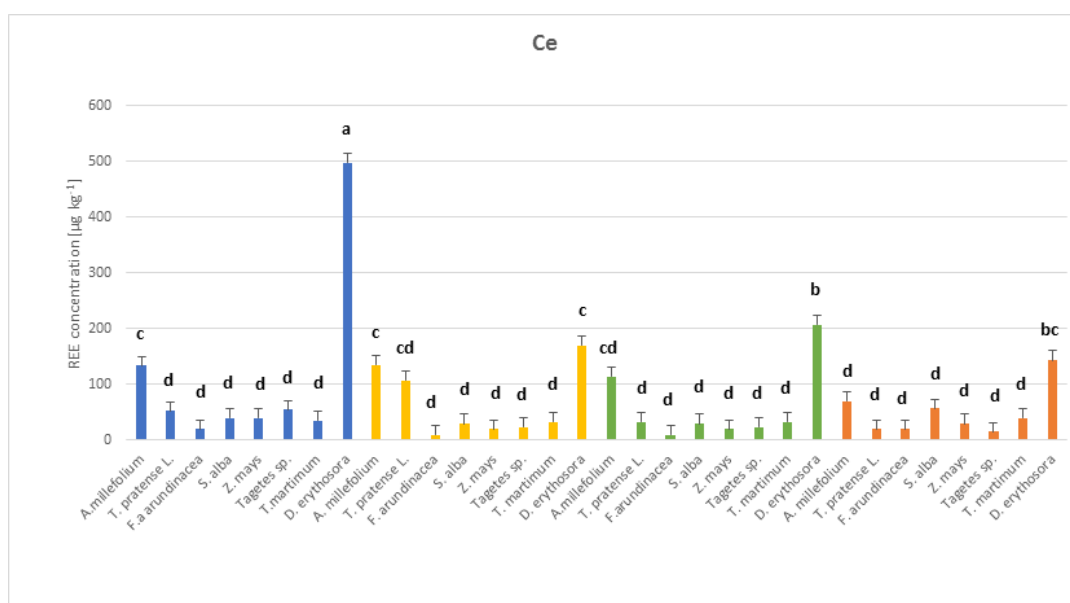
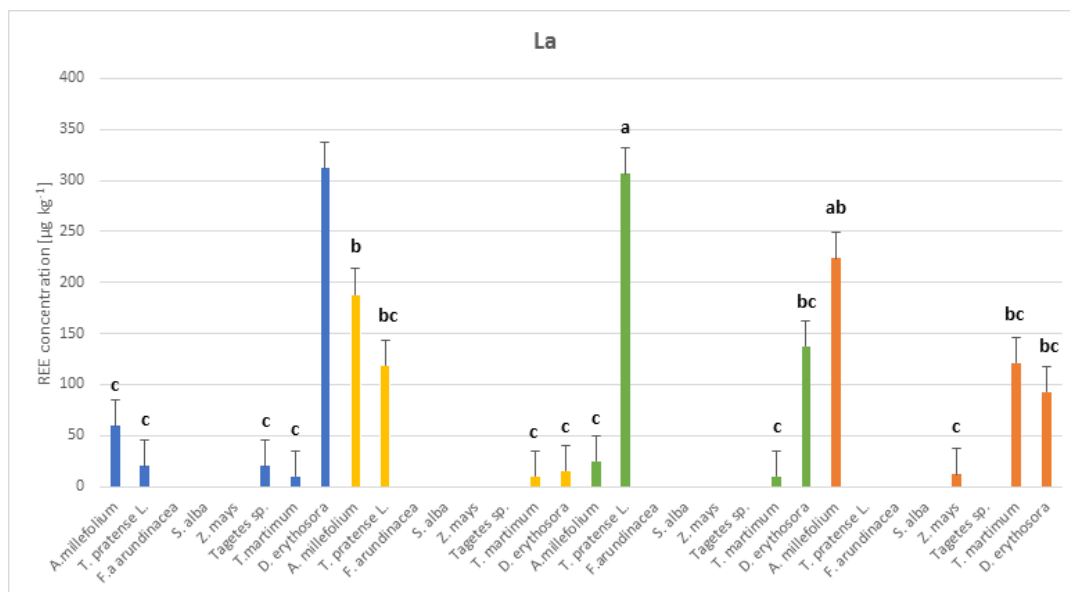
Celem doświadczenia Gmur i in. (2025a) była ocena efektywności wybranych gatunków roślin jako potencjalnych fitoekstraktorów z uwzględnieniem czterech typów podłoża. Zbadane zostały: wzrost roślin, wskaźnik tolerancji (TI), zmiana pH podłoża, akumulacja pierwiastków w nadziemnych i podziemnych częściach roślin oraz współczynnik translokacji (TF) i współczynnik biokoncentracji (BCF). Wykazano, że wzrost roślin był w dużym stopniu zależny od użytego podłoża. Największy przyrost

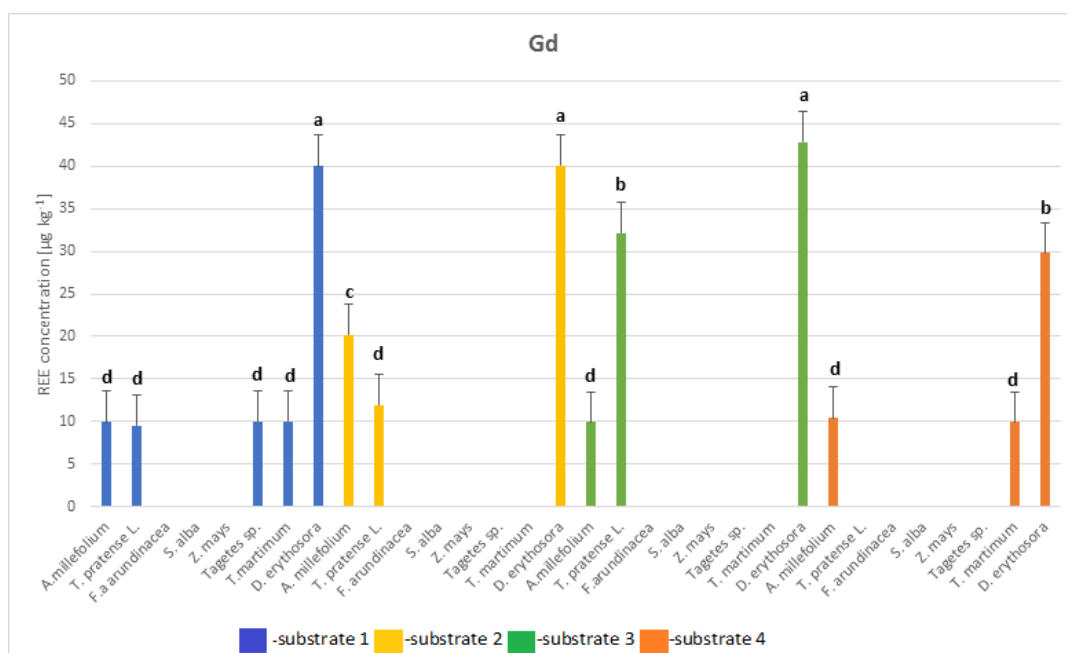
biomasy dla każdego gatunku, z wyjątkiem *S. alba* uzyskano dla podłoża 1. Dla *S. alba* największą biomasę uzyskano na podłożu 2 (4,47 g doniczka⁻¹) (rys. 1 w: Gmur i in. 2025b). Podłoże 1 charakteryzowało się mniejszą zawartością potencjalnie toksycznych metali w porównaniu do pozostałych substratów, jak również bardziej optymalnym dla wzrostu roślin pH.

Pierwiastki w glebie są bardziej dostępne dla roślin, gdy gleba charakteryzuje się niższym pH, co ma wpływ na biodostępność i mobilność pierwiastków w matrycy glebowej oraz na wzrost i rozwój roślin. Wartości pH dla podłoża 1 znajdowały się w zakresie od 5,15 do 5,88. W podłożach 2 – 4, które zawierały odpady, pH było wyższe w porównaniu do podłoża 1. Dla podłoża 2 wynosiło ono 7,31 – 7,58, dla podłoża 3 7,55 – 7,89 i dla podłoża 4 7,15 – 7,26. Ogólnie rzecz biorąc, pH w podłożu 1 obniżyło się w trakcie trwania doświadczenia w porównaniu do pH początkowego. Natomiast w przypadku pozostałych podłoży odczyn był bardziej stabilny (tab. 2 w: Gmur i in. 2025a). Pierwiastki w glebie są bardziej dostępne dla roślin, gdy gleba charakteryzuje się niższym pH, co ma wpływ na biodostępność i mobilność pierwiastków w matrycy glebowej oraz na wzrost i rozwój roślin.

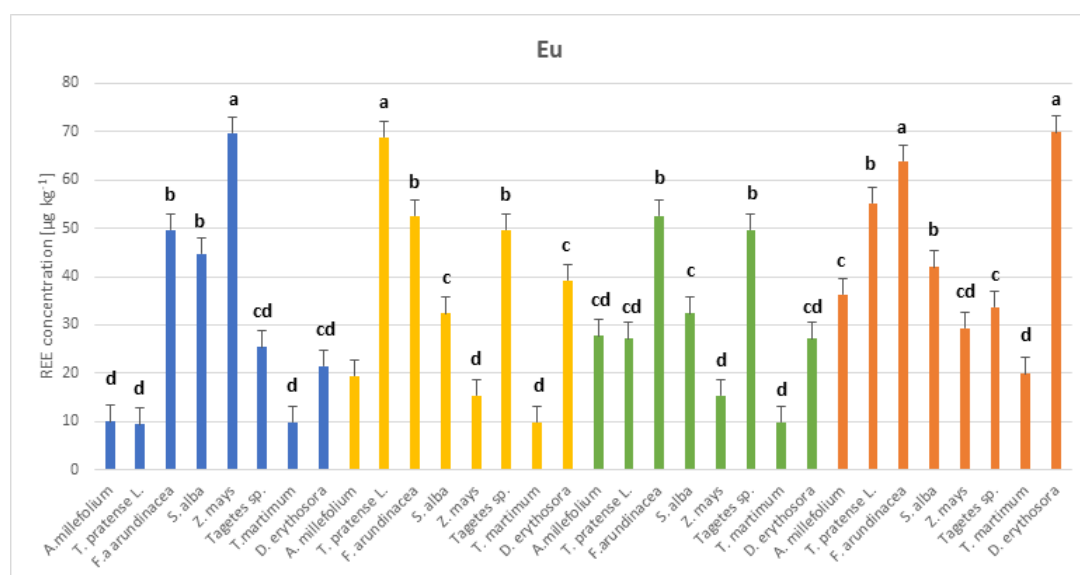
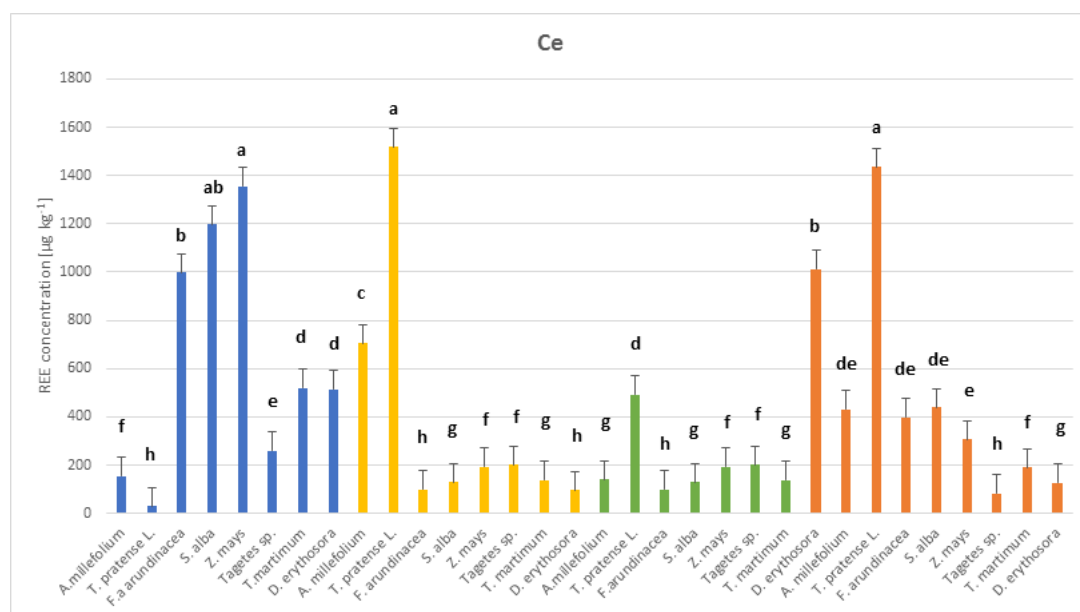
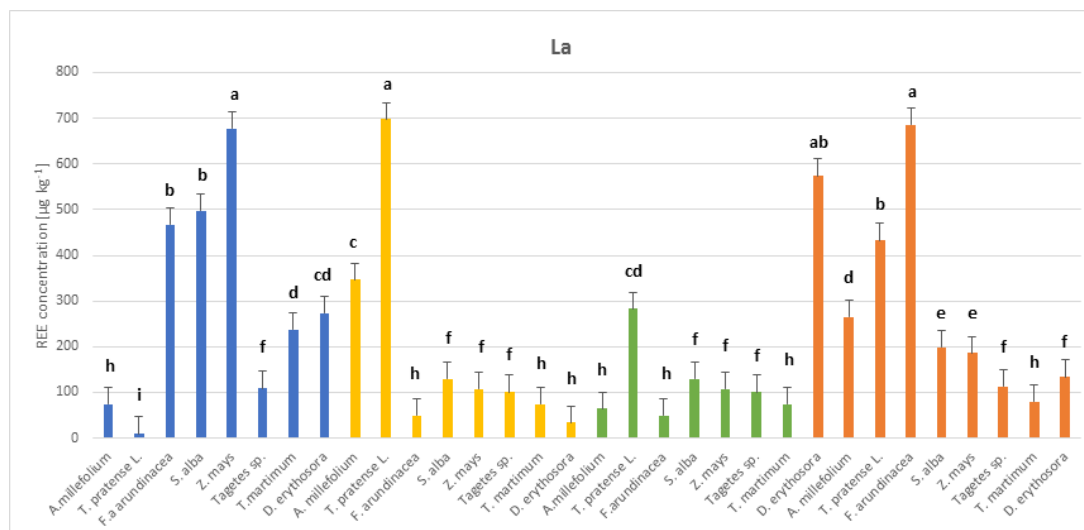
W doświadczeniu skupiono uwagę na akumulacji czterech wybranych REE: La, Ce, Eu oraz Gd w częściach nadziemnych i podziemnych roślin (rysunek 2 i 3). Badania wykazały, że rośliny gromadzą badane metale w większych stężeniach w częściach podziemnych w porównaniu do części nadziemnych.

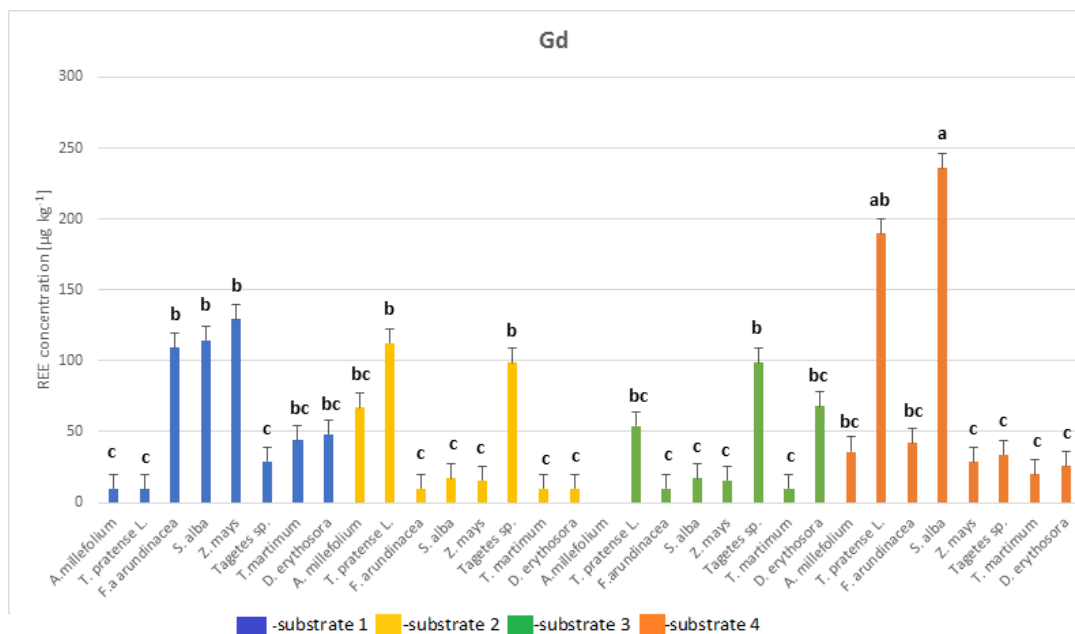
W częściach nadziemnych stężenie La znajdowało się w przedziale 9 µg kg⁻¹ – 311 µg kg⁻¹, odpowiednio dla *T. martimum* (podłoże 3) oraz *D. erythrosora* (podłoże 1). Dla Ce zakres wynosił 1 µg kg⁻¹ (*F. arundinacea*, podłoże 2 i 3) – 418 µg kg⁻¹ (*D. erythrosora*, podłoże 1). Dla Eu zawartości znajdowały się na niskim poziomie, najwyższą wartość otrzymano dla *D. erythrosora* (podłoże 3) i wynosiła ona 2 µg kg⁻¹. Najwyższą zawartość Gd odnotowano dla *D. erythrosora* (substrat 3) i wynosiła ona 4,3 µg kg⁻¹.





Rysunek 2 Zawartości La, Ce, Eu, Gd w częściach nadziemnych *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense*, *Festuca arundinacea*, *Sinapsis alba*, *Tagetes sp.*, *Tripleurospermum martimum* i *Dryopteris erythrosora* rosnących na czterech podłożach (µg kg⁻¹, średnia ± SD, n=3). Skład podłoży: podłoże 1 – 95% gleba, 5% kompost; podłoże 2 – 30% popiół z przemysłu papierniczego, 20% kompost, 50% torf; podłoże 3 – 30% popiół z elektrowni, 20% kompost, 50% torf; podłoże 4 – 40% odpad poflotacyjny, 20% kompost, 40% torf. Wartości oznaczone różnymi literami (a, b, c, itd.) wskazują na istotne różnice przy $p < 0,05$ przy zastosowaniu testu Tukey’a (ANOVA). Puste pola oznaczają zawartość pierwiastków poniżej granicy detekcji (Gmur i in. 2025a)





Rysunek 3 Zawartości La, Ce, Eu, Gd w częściach podziemnych *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense*, *Festuca arundinacea*, *Sinapsis alba*, *Tagetes sp.*, *Tripleurospermum martimum* i *Dryopteris erythrosora* rosnących na czterech podłożach (µg kg⁻¹, średnia ± SD, n=3). Skład podłoży: podłoże 1 – 95% gleba, 5% kompost; podłoże 2 – 30% popiół z przemysłu papierniczego, 20% kompost, 50% torf; podłoże 3 – 30% popiół z elektrowni, 20% kompost, 50% torf; podłoże 4 – 40% odpad poflotacyjny, 20% kompost, 40% torf. Wartości oznaczone różnymi literami (a, b, c, itd.) wskazują na istotne różnice przy $p < 0,05$ przy zastosowaniu testu Tukey’a (ANOVA). Puste pola oznaczają zawartość pierwiastków poniżej granicy detekcji (Gmur i in. 2025a)

Dla oceny zjawisk pobierania REE i ich transportu do części nadziemnych obliczone zostały dwa współczynniki: współczynnik translokacji (TF) i współczynnik biokoncentracji (BCF) (tabela 6 i 7). Dla wszystkich badanych roślin BCF był niższy niż 1. Najwyższy współczynnik BCF w badaniu otrzymano dla *Z. mays*, podłoże 1 (La, BCF = 0,10; Ce, BCF = 0,10; Eu, BCF = 0,47) oraz dla *S. alba*, podłoże 4 (Gd, BCF = 0,15). Kolejnym liczonym współczynnikiem, był TF, dla którego wartości wyższe niż 1 dla wszystkich czterech badanych REE otrzymano jedynie dla *T. pratense*, podłoże 1 (La, TF = 2,00; Ce, TF = 1,78; Eu, TF = 1,05; Gd, TF = 1,00). Uzyskane TF dla powyższego gatunku i podłoża były najwyższymi uzyskanymi w eksperymencie wynikami dla La i Eu. Ponadto dla *D. erythrosora* na podłożu 2 otrzymano najwyższe TF dla Ce (TF = 1,80) oraz dla Gd (TF = 4,03).

Tabela 6 Współczynnik biokoncentracji (BCF) dla La, Ce, Eu, Gd dla: *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense*, *Festuca arundinacea*, *Sinapsis alba*, *Tagetes* sp., *Triplerospermum martimum* i *Dryopteris erythrosora* rosnących na czterech podłożach. Skład podłoża: podłoże 1 – 95% gleba, 5% kompost; podłoże 2 – 30% popiół z przemysłu papierniczego, 20% kompost, 50% torf; podłoże 3 – 30% popiół z elektrowni, 20% kompost, 50% torf; podłoże 4 – 40% odpad poflotacyjny, 20% kompost, 40% torf. Najwyższe zawartości BCF zaznaczono pogrubioną czcionką (Gmur i in. 2025a)

Typ podłoża	Gatunek	La	Ce	Eu	Gd
Podłoże 1	<i>Achillea millefolium</i>	0,02	0,02	0,13	0,02
	<i>Trifolium pratense</i> L.	0,004	0,006	0,13	0,01
	<i>Festuca arundinacea</i>	0,07	0,07	0,40	0,11
	<i>Sinapsis alba</i>	0,08	0,09	0,37	0,11
	<i>Zea mays</i>	0,11	0,10	0,47	0,13
	<i>Tagetes</i> sp.	0,02	0,02	0,23	0,03
	<i>Triplerospermum martimum</i>	0,04	0,04	0,13	0,05
	<i>Dryopteris erythrosora</i>	0,09	0,07	0,28	0,08
Podłoże 2	<i>Achillea millefolium</i>	0,06	0,04	0,03	0,04
	<i>Trifolium pratense</i> L.	0,09	0,08	0,12	0,06
	<i>Festuca arundinacea</i>	0,005	0,005	0,09	0,005
	<i>Sinapsis alba</i>	0,01	0,008	0,05	0,008
	<i>Zea mays</i>	0,01	0,01	0,02	0,008
	<i>Tagetes</i> sp.	0,01	0,01	0,09	0,05
	<i>Triplerospermum martimum</i>	0,009	0,009	0,01	0,005
	<i>Dryopteris erythrosora</i>	0,005	0,01	0,09	0,02
Podłoże 3	<i>Achillea millefolium</i>	0,001	0,002	0,01	0,0007
	<i>Trifolium pratense</i> L.	0,008	0,004	0,01	0,006
	<i>Festuca arundinacea</i>	0,006	0,006	0,03	0,006

	<i>Sinapsis alba</i>	0,003	0,003	0,008	0,003
	<i>Zea mays</i>	0,005	0,006	0,06	0,006
	<i>Tagetes sp.</i>	0,005	0,006	0,03	0,006
	<i>Triplerosperum martimum</i>	0,008	0,007	0,008	0,007
	<i>Dryopteris erythosora</i>	0,01	0,01	0,01	0,008
Podłoże 4	<i>Achillea millefolium</i>	0,06	0,03	0,12	0,02
	<i>Trifolium pratense L.</i>	0,06	0,08	0,18	0,12
	<i>Festuca arundinacea</i>	0,09	0,02	0,21	0,02
	<i>Sinapsis alba</i>	0,02	0,02	0,14	0,15
	<i>Zea mays</i>	0,02	0,02	0,09	0,01
	<i>Tagetes sp.</i>	0,01	0,005	0,11	0,02
	<i>Triplerosperum martimum</i>	0,02	0,01	0,06	0,01
	<i>Dryopteris erythosora</i>	0,03	0,01	0,27	0,03

Tabela 7 Współczynnik biokoncentracji (BCF) dla La, Ce, Eu, Gd dla: *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense*, *Festuca arundinacea*, *Sinapsis alba*, *Tagetes sp.*, *Tripleurospermum martimum* i *Dryopteris erythrosora* rosnących na czterech podłożach. Skład podłoży: podłoże 1 – 95% gleba, 5% kompost; podłoże 2 – 30% popiół z przemysłu papierniczego, 20% kompost, 50% torf; podłoże 3 – 30% popiół z elektrowni, 20% kompost, 50% torf; podłoże 4 – 40% odpad poflotacyjny, 20% kompost, 40% torf. Najwyższe zawartości BCF zaznaczono pogrubioną czcionką (Gmur i in. 2025a)

Typ podłoża	Gatunek	La	Ce	Eu	Gd
Podłoże 1	<i>Achillea millefolium</i>	0,80	0,87	1,00	1,00
	<i>Trifolium pratense L.</i>	2,00	1,78	1,05	1,00

	<i>Festuca arundinacea</i>	b.d.	0,01	0,19	b.d.
	<i>Sinapsis alba</i>	b.d.	0,03	0,22	b.d.
	<i>Zea mays</i>	b.d.	0,02	b.d.	b.d.
	<i>Tagetes sp.</i>	0,18	0,21	0,39	0,34
	<i>Triplerosperum martimum</i>	0,04	0,06	1,00	0,22
	<i>Dryopteris erythosora</i>	1,17	0,97	0,93	0,83
Podłoże 2	<i>Achillea millefolium</i>	0,54	0,20	b.d.	0,30
	<i>Trifolium pratense L.</i>	0,17	0,07	b.d.	0,10
	<i>Festuca arundinacea</i>	b.d.	0,10	b.d.	b.d.
	<i>Sinapsis alba</i>	b.d.	0,24	b.d.	b.d.
	<i>Zea mays</i>	b.d.	0,10	b.d.	b.d.
	<i>Tagetes sp.</i>	b.d.	0,22	b.d.	b.d.
	<i>Triplerosperum martimum</i>	0,13	0,24	b.d.	b.d.
	<i>Dryopteris erythosora</i>	0,47	1,80	0,25	4,03
Podłoże 3	<i>Achillea millefolium</i>	0,40	0,83	b.d.	b.d.
	<i>Trifolium pratense L.</i>	1,13	0,06	b.d.	0,58
	<i>Festuca arundinacea</i>	b.d.	0,04	b.d.	b.d.
	<i>Sinapsis alba</i>	b.d.	0,03	b.d.	b.d.
	<i>Zea mays</i>	b.d.	0,02	b.d.	b.d.
	<i>Tagetes sp.</i>	b.d.	0,01	b.d.	b.d.
	<i>Triplerosperum martimum</i>	0,05	0,01	b.d.	b.d.
	<i>Dryopteris erythosora</i>	0,24	0,20	0,39	0,63
Podłoże 4	<i>Achillea millefolium</i>	0,85	0,16	b.d.	0,29
	<i>Trifolium pratense L.</i>	b.d.	0,01	b.d.	b.d.

	<i>Festuca arundinacea</i>	b.d.	0,05	b.d.	b.d.
	<i>Sinapsis alba</i>	b.d.	0,12	b.d.	b.d.
	<i>Zea mays</i>	0,06	0,09	b.d.	b.d.
	<i>Tagetes sp.</i>	b.d.	0,19	b.d.	b.d.
	<i>Triplerosperum martimum</i>	1,56	0,21	b.d.	0,49
	<i>Dryopteris erythrosora</i>	0,69	1,16	0,24	1,17

4.3. Ocena efektywności zastosowania chelatów w fitoekstracji REE – doświadczenie 2

Prezentowane w tym rozdziale wyniki zostały opublikowane w artykule Gmur i in. 2025b. Celem badania była ocena efektywności dogłębowego zastosowania związków chelatujących CA, EGTA, EDTA na akumulację REE przez trzy gatunki roślin: *A. millefolium*, *T. pratense*, *D. erythrosora*. W doświadczeniu oceniono następujące parametry: wielkość biomasy, odczyn podłoża, poziom akumulacji La, Ce, Eu i Gd oraz obliczono współczynniki: BCF i TF dla tych metali.

Dodatek chelatów do podłoża wpływał negatywnie na wzrost *A. millefolium* na podłożu 1 w porównaniu do kontroli, gdzie chelaty nie były stosowane. Największy spadek biomasy odnotowano po zastosowaniu 5 mM EGTA i 5 mM EDTA, odpowiednio o 22% i 21% w porównaniu do kontroli. Natomiast na podłożu 2, dla *A. millefolium* zaobserwowano spadek biomasy po zastosowaniu 10 mM CA. Dla *T. pratense* rosnącej na podłożu 1 dodanie chelatów wywarło pozytywny efekt na przyrost biomasy. Najbardziej stymulujący okazał się dodatek 5 mM i 10 mM EDTA, dla którego odnotowano odpowiednio wzrost biomasy o 34% i 51%. Na podłożu 2 również nie wykazano znaczącego spadku biomasy. W związku z tym można sugerować, że dodatki chelatów do podłoża nie wywierają toksycznego wpływu na wzrost *T. pratense*. Zaobserwowano istotne różnice w reakcji *D. erythrosora* na dodanie chelatów: 5 mM EGTA, 5 mM EDTA oraz 10 mM EGTA, gdzie odnotowano wzrost biomasy odpowiednio o 22%, 32% i 22% (rysunek 1 w: Gmur i in. 2025b).

Ocena statystyczna nie wykazała istotnych różnic dla otrzymanych wyników pH pomiędzy gatunkami roślin w obrębie podłoża. Zakres pH dla podłoża 1 mieścił się w przedziale 5,6 – 6,6, natomiast dla podłoża 2 7,3 – 7,5. Porównując wartości pH do kontroli, w której nie zastosowano chelatów wnioskuje się, że chelaty przeważnie obniżają pH podłoża w pewnym stopniu, co mogło mieć wpływ na rozpuszczalność metali w glebie (tabela 3 i 4: Gmur i in. 2025b).

W kolejnym etapie prac analizie poddano zawartość wybranych REE: La, Ce, Eu i Gd w tkankach nadziemnych i podziemnych roślin. Analiza wariancji wykazała istotny wpływ ($p < 0,05$) gatunku rośliny i rodzaju podłoża na zawartość REE w badanych partiach roślin (tabela 8 – 10). Eksperyment wykazał, że rośliny rosnące na podłożu 1 charakteryzowały się wyższymi zawartościami REE w porównaniu do podłoża 2. Można wnioskować, że wpływ na wyższy poziom akumulacji REE przez rośliny na podłożu 1 miało niższe pH podłoża oraz fakt, że REE zostały dodane do gleby w postaci roztworów, tworząc większą pulę łatwo dostępnych dla korzeni metali. Odnotowano również różnicę w zdolności poszczególnych gatunków roślin do akumulacji REE rosnących na podłożach kontrolnych oraz poddanych oddziaływaniu chelatów. Kolejność roślin pod względem akumulacji metali przedstawia się następująco: *D. erythrosora* > *T. pratense* > *A. millefolium*. Dodatkowo zawartości RE były wyższe w częściach podziemnych niż w częściach nadziemnych. Odnotowano również, że dodatek chelatów powoduje spadek zawartości REE w podziemnych częściach roślin w porównaniu do kontroli.

Tabela 8 Zawartość La, Ce, Eu, Gd (mg kg⁻¹) w częściach nadziemnych *Achillea millefolium* rosnącego na dwóch podłożach. Skład podłoży: podłoże 1 – 95% gleba, 5% kompost; podłoże 2 – 30% popiół z elektrowni, 20% – kompost, 50 torf (Gmur i in. 2025b)

	Chelat	Części nadziemne								Części podziemne							
		La		Ce		Eu		Gd		La		Ce		Eu		Gd	
Podłoże 1	Control	1,68±0,24	ab	1,46±0,36	b	0,31±0,03	e	0,95±0,26	b	43,59±0,92	b	37,40±0,75	c	23,76±0,33	c	45,74±2,82	b
	5 mM CA	1,81±0,15	ab	1,67±0,16	b	0,57±0,02	de	1,28±0,12	ab	37,78±5,39	cd	29,29±5,76	d	32,41±4,17	b	40,15±2,18	b
	5 mM EGTA	1,58±0,26	c	1,78±0,23	b	0,67±0,17	cd	1,46±0,19	ab	57,63±0,26	a	53,15±0,68	a	41,84±2,65	a	63,60±3,43	a
	5 mM EDTA	1,81±0,15	ab	1,69±0,09	b	1,50±0,22	b	3,50±0,54	a	41,40±0,82	bc	28,53±2,58	d	14,76±1,47	d	35,61±0,85	d
	10 mM CA	2,04±0,03	a	2,26±0,36	b	0,72±0,29	cd	1,43±0,69	ab	33,68±0,56	d	27,23±2,83	d	19,76±0,08	cd	39,70±1,27	c
	10 mM EGTA	1,71±0,09	ab	1,74±1,06	b	1,05±0,21	c	2,12±0,10	a	39,11±0,63	bc	41,90±0,52	b	20,53±0,51	c	34,59±5,09	d
	10 mM EDTA	2,00±0,09	a	2,82±1,06	a	4,00±0,21	a	3,70±0,10	a	32,56±0,63	e	43,16±0,52	b	32,38±0,51	b	31,37±5,09	d
Podłoże 2	Control	0,04±0,02	d	0,10±0,03	c	0,02±0,01	f	0,06± 0,03	c	0,36±0,01	f	0,58±0,0352	e	0,23±0,06	e	0,40±0,04	e
	5 mM CA	0,05±0,02	d	0,11±0,02	c	0,03±0,01	f	0,06±0,01	c	0,19±0,01	f	0,12±0,01	e	0,12±0,01	e	0,21±0,01	e
	5 mM EGTA	0,08±0,02	d	0,15±0,03	c	0,05±0,01	f	0,13±0,03	c	0,31±0,08	f	0,18±0,039	e	0,05±0,01	e	0,32±0,34	e
	5 mM EDTA	0,09±0,03	d	0,13±0,05	c	0,03±0,02	f	0,08±0,05	c	0,24±0,03	f	0,14±0,05	e	0,05±0,01	e	0,08±0,01	e
	10 mM CA	0,07±0,01	d	0,12±0,02	c	0,04±0,01	f	0,06±0,01	c	0,11±0,01	f	0,14±0,01	e	0,04±0,01	e	0,08±0,01	e
	10 mM EGTA	0,04±0,01	d	0,08±0,01	c	0,01±0,0001	f	0,05±0,005	c	0,25±0,02	f	0,27±0,01	e	0,07±0,02	e	0,25±0,03	e
	10 mM EDTA	0,05±0,01	d	0,12±0,03	c	0,02±0,01	f	0,07±0,02	c	0,32±0,03	f	0,34±0,04	e	0,17±0,03	e	0,28±0,08	e

Wartości oznaczone różnymi literami (a, b, c, itd.) wskazują na istotne różnice przy $p < 0,05$ przy zastosowaniu testu Tukey'a (ANOVA)

Tabela 9 Zawartość La, Ce, Eu, Gd (mg kg⁻¹) w częściach nadziemnych *Trifolium pratense* rosnącego na dwóch podłożach. Skład podłoży: podłoże 1 – 95% gleba, 5% kompost; podłoże 2 – 30% popiół z elektrowni, 20% – kompost, 50 torf. (Gmur i in. 2025b)

	Chelat	Części nadziemne								Części podziemne							
		La		Ce		Eu		Gd		La		Ce		Eu		Gd	
Podłoże 1	Control	3,98±0,69	a	3,01±0,39	b	0,88±0,16	c	2,47±0,33	c	42,12±1,77	b	43,13±3,78	b	16,16±1,37	d	39,13±0,28	bc
	5 mM CA	3,63±0,14	b	2,96±0,04	c	0,98±0,14	c	2,71±0,18	c	35,89±1,54	c	34,18±1,43	c	15,19±0,65	d	37,56±2,00	c
	5 mM EGTA	3,47±0,25	b	2,50±0,22	d	1,01±0,17	c	2,68±0,18	c	37,45±0,25	c	35,15±0,68	c	22,77±2,65	c	34,07±3,42	c
	5 mM EDTA	3,45±0,34	b	3,03±0,23	b	2,62±0,22	b	5,28±0,39	b	40,46±1,30	b	33,34±2,12	c	23,11±0,30	c	33,66±1,04	c
	10 mM CA	3,56±0,32	b	2,29±0,19	d	1,05±0,12	c	2,26±0,26	c	60,20±2,18	a	44,84±1,65	b	30,13±1,05	b	51,15±3,45	a
	10 mM EGTA	2,88±0,05	c	4,01±0,15	a	3,70±0,18	a	5,94±0,01	b	60,16±4,72	a	62,22±5,15	a	45,91±6,40	a	43,19±2,76	b
	10 mM EDTA	3,55±0,20	b	3,82±0,36	a	3,98±0,70	a	10,20±0,53	a	32,56±0,86	c	43,16±0,42	b	32,38±1,57	b	31,37±1,54	d
Podłoże 2	Control	0,04±0,01	d	0,07±0,01	e	0,02±0,01	d	0,05± 0,02	d	0,42±0,03	d	0,53±0,02	d	0,23±0,03	e	0,39±0,04	e
	5 mM CA	0,06±0,02	d	0,09±0,01	e	0,02±0,01	d	0,07±0,03	d	0,48±0,18	d	0,29±0,06	d	0,40±0,18	e	0,39±0,06	e
	5 mM EGTA	0,04±0,02	d	0,10±0,01	e	0,02±0,01	d	0,04±0,01	d	0,25±0,05	d	0,34±0,06	d	0,16±0,06	e	0,19±0,05	e
	5 mM EDTA	0,02±0,01	d	0,05±0,01	e	0,01±0,01	d	0,02±0,01	d	0,24±0,10	d	0,14±0,03	d	0,05±0,01	e	0,08±0,02	e
	10 mM CA	0,03±0,03	d	0,08±0,05	e	0,06±0,07	d	0,04±0,02	d	0,62±0,13	d	0,80±0,13	d	0,43±0,03	e	0,78±0,09	e
	10 mM EGTA	0,04±0,01	d	0,08±0,01	e	0,01±0,01	d	0,03±0,01	d	0,29±0,06	d	0,25±0,01	d	0,10±0,02	e	0,30±0,06	e
	10 mM EDTA	0,02±0,01	d	0,05±0,02	e	0,01±0,01	d	0,03±0,01	d	0,32±0,05	d	0,34±0,01	d	0,17±0,03	e	0,28±0,01	e

Wartości oznaczone literami (a, b, c, itd.) wykazują istotne różnice przy $p < 0,05$ przy zastosowaniu testu Tukey'a (ANOVA).

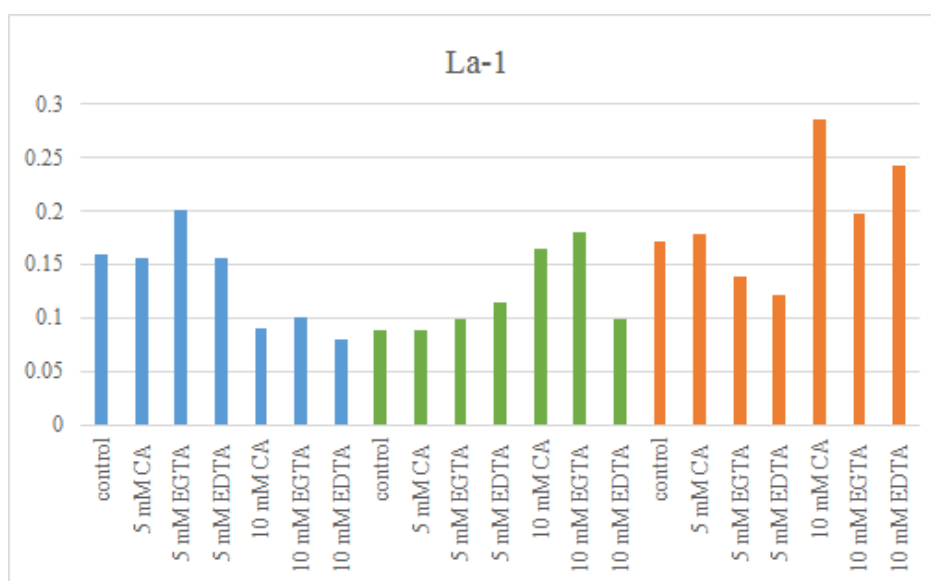
Tabela 10 Zawartość La, Ce, Eu, Gd (mg kg⁻¹) w częściach nadziemnych *Dryopteris erythrosora* rosnącego na dwóch podłożach. Skład podłoży: podłoże 1 – 95% gleba, 5% kompost; podłoże 2 – 30% popiół z elektrowni, 20% – kompost, 50 torf. (Gmur i in. 2025b)

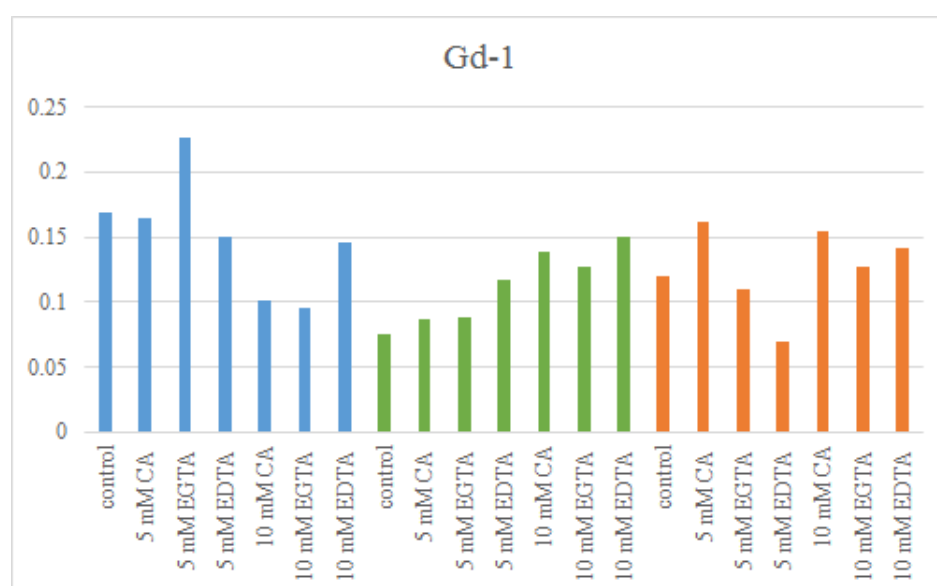
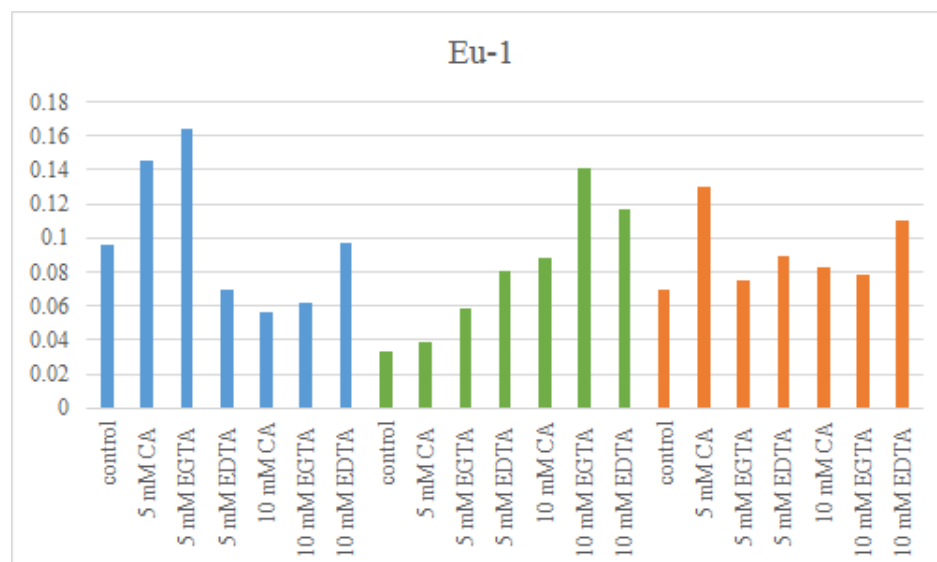
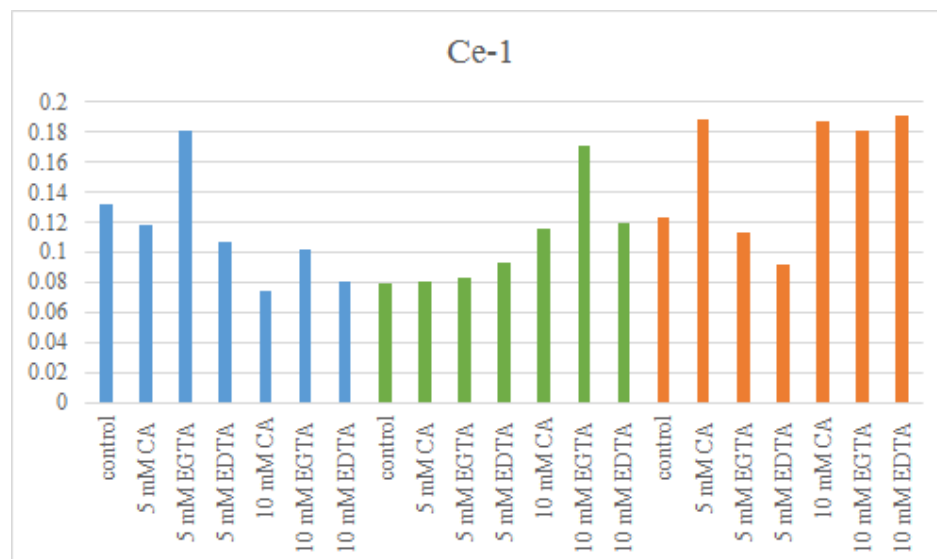
	Chelat	Części nadziemne								Części podziemne							
		La		Ce		Eu		Gd		La		Ce		Eu		Gd	
Podłoże 1	Control	8.73±0.09	d	7.48±0.79	d	2.61±0.09	b	3.29±0.10	e	51.61±0.41	a	35.15±2.72	c	20.15±1.28	b	44.77±2.37	a
	5 mM CA	9.67±1.99	c	9.08±1.20	c	3.60±0.10	a	4.99± 0.33	c	38.36±1.79	b	45.11±3.90	a	29.74±2.09	a	42.00±0.75	ab
	5 mM EGTA	14.66±0.25	b	12.30±0.21	b	3.57±0.08	a	6.13± 0.30	b	39.37±5.85	b	34.24±0.44	c	22.87±1.11	b	37.36±1.82	b
	5 mM EDTA	9.11± 0.47	c	6.02±0.28	d	3.00±0.64	ab	2.82± 0.03	f	28.35±6.006	c	27.00±5.23	d	30.30±1.46	a	25.40±2.11	c
	10 mM CA	23.54±2.61	a	15.24±2.86	a	3.24±0.36	ab	7.71± 0.98	a	49.15±1.64	a	40.98±1.83	b	21.28±0.55	b	42.40±2.99	a
	10 mM EGTA	14.66±0.19	b	12.30±0.26	b	3.57±0.14	a	6.13± 0.53	b	43.04±1.18	b	47.33±1.00	a	20.40±3.17	b	38.99±0.67	b
	10 mM EDTA	12.08±1.21	bc	9.00±0.38	c	1.47±0.26	c	4.17± 0.19	c	54.56±1.67	a	46.56±0.46	a	28.94±4.01	a	37.27±2.05	b
Podłoże 2	Control	0.14±0.02	e	0.22±0.04	e	0.01±0.01	d	0.03±0.01	g	0.25±0.03	d	0.47±0.01	e	0.03±0.01	c	0.11±0.03	d
	5 mM CA	0.30±0.05	e	0.31±0.04	e	0.16±0.06	d	0.18±0.06	g	0.18±0.06	d	0.28±0.01	e	0.04±0.01	c	0.07±0.001	d
	5 mM EGTA	0.25±0.03	e	0.24±0.04	e	0.03±0.01	d	0.09±0.07	g	0.13±0.02	d	0.32± 0.01	e	0.02±0.01	c	0.05±0.01	d
	5 mM EDTA	0.50±0.13	e	0.68±0.10	e	0.02±0.01	d	0.04±0.01	g	0.13±0.03	d	0.22±0.02	e	0.03±0.01	c	0.03±0.001	d
	10 mM CA	0.81±0.31	e	0.94±0.22	e	0.14±0.10	d	0.33±0.04	g	0.15±0.02	d	0.32±0.02	e	0.06±0.02	c	0.07±0.01	d
	10 mM EGTA	0.21±0.05	e	0.39±0.01	e	0.03±0.01	d	0.09±0.01	g	0.12±0.01	d	0.30±0.01	e	0.02±0.01	c	0.05±0.01	d
	10 mM EDTA	0.36±0.05	e	0.55±0.07	e	0.04±0.01	d	0.07±0.02	g	0.18±0.02	d	0.36±0.07	e	0.06±0.03	c	0.11±0.03	d

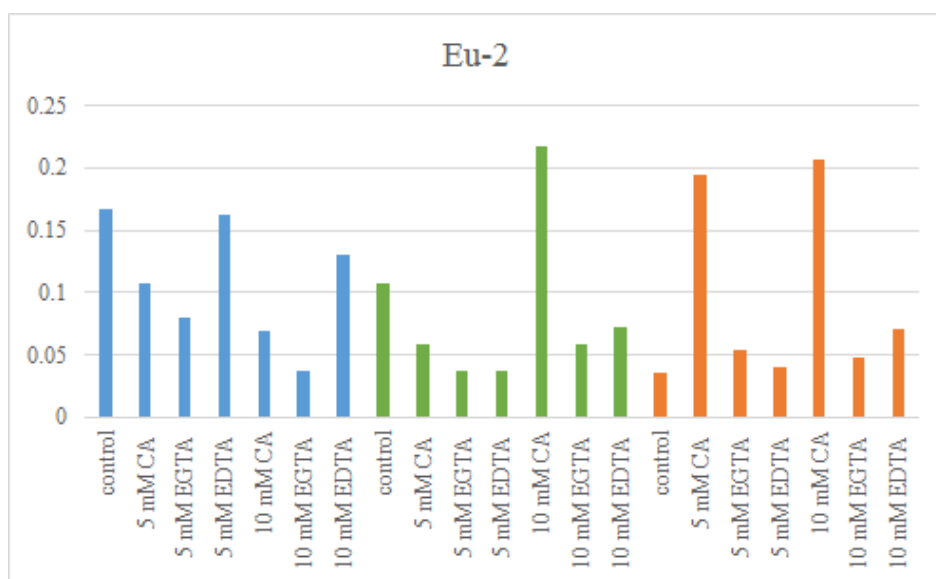
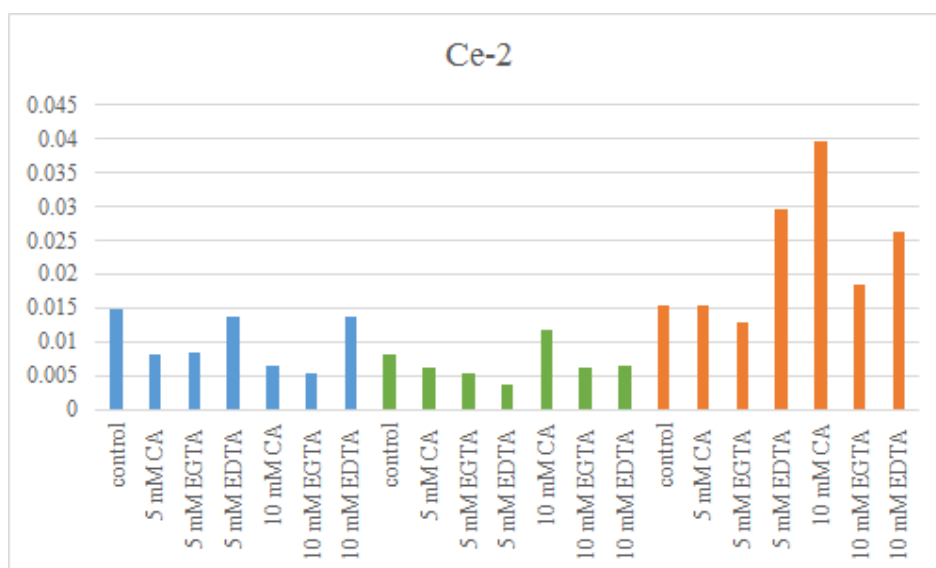
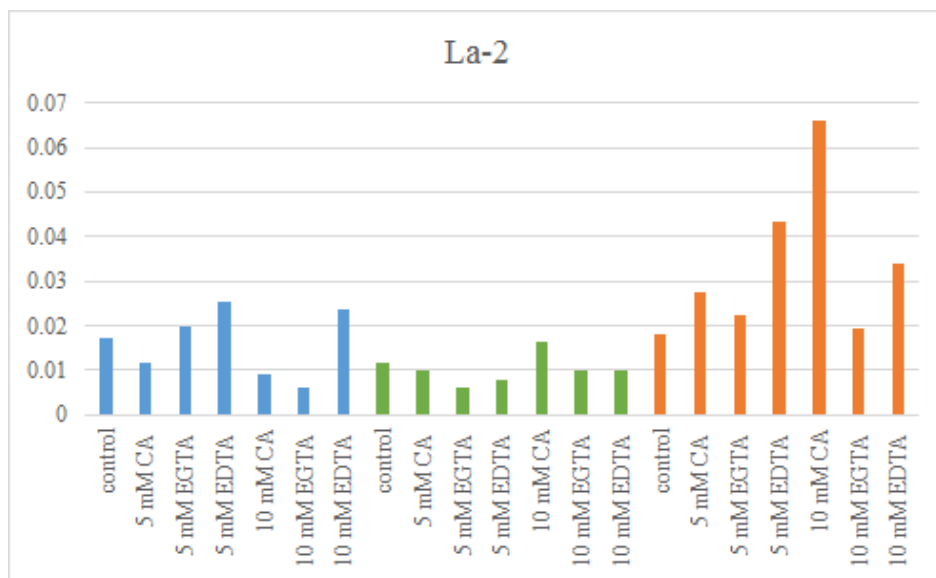
Wartości oznaczone literami (a, b, c, itd.) wykazują istotne różnice przy $p < 0,05$ przy zastosowaniu testu Tukey'a (ANOVA).

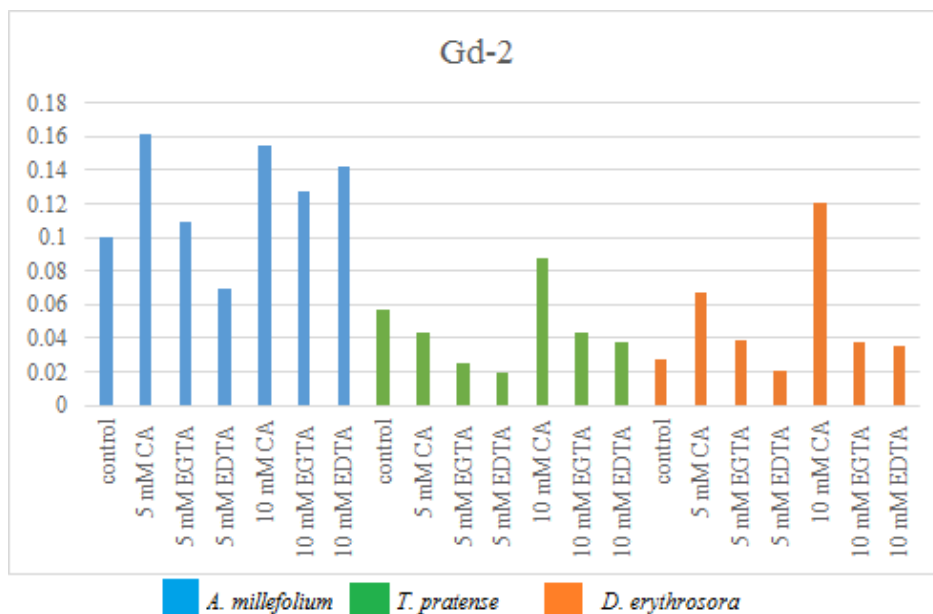
Współczynniki TF i BCF zostały przedstawione na rysunku 4 i 5. W doświadczeniu z zastosowaniem chelatów nie uzyskano BCF wyższego niż 1 dla badanych roślin. Najwyższy wskaźnik BCF = 0,28 uzyskano dla *D. erythrosora* po zastosowaniu 10 mM CA w podłożu 1. Dla Ce najwyższy BCF również uzyskano dla *D. erythrosora* (podłoże 1) po zastosowaniu chelatów: 5 mM i 10 mM CA oraz 10 mM EDTA, który wynosił dla każdego 0,19. Dla Eu najwyższy BCF = 0,22 odnotowano dla podłoża 2 dla *T. pratense* w obecności 10 mM CA. Natomiast dla Gd najwyższy BCF, który wynosił 0,23 otrzymano dla *A. millefolium* rosnącego w podłożu 1 po aplikacji 5 mM EGTA.

Współczynnik TF w niniejszym doświadczeniu wyższy niż 1 otrzymano tylko dla *D. erythrosora* i *A. millefolium*, które rosły w podłożu 2. Najwyższy TF w całym eksperymencie, który wynosił 5,40 odnotowano dla La dla *D. erythrosora* (podłoże 2) po aplikacji 10 mM CA. Dla Ce najwyższy TF (3,09) odnotowano dla tej samej rośliny (podłoże 2) po zastosowaniu 5 mM EDTA. Również dla *D. erythrosora* (podłoże 2) po zastosowaniu 10 mM CA odnotowano najwyższy wskaźnik TF = 4,00 dla Eu. Dla Gd najwyższe TF = 1,00 otrzymano dla *A. millefolium* uprawianego na podłożu 2, po zastosowaniu 5 mM EDTA. Dodatkowo dla tej rośliny rosnącej na podłożu 2 otrzymano TF = 1,00 po aplikacji 10 mM CA (rys. 4 i 5). Między zastosowanymi podłożami oraz gatunkami roślin można zauważyć wyraźne różnice w wartościach TF. Wartości TF dla podłoża 2 wzrastały w następującej kolejności *D. erythrosora* > *A. millefolium* > *T. pratense* (Gmur i in. 2025b).

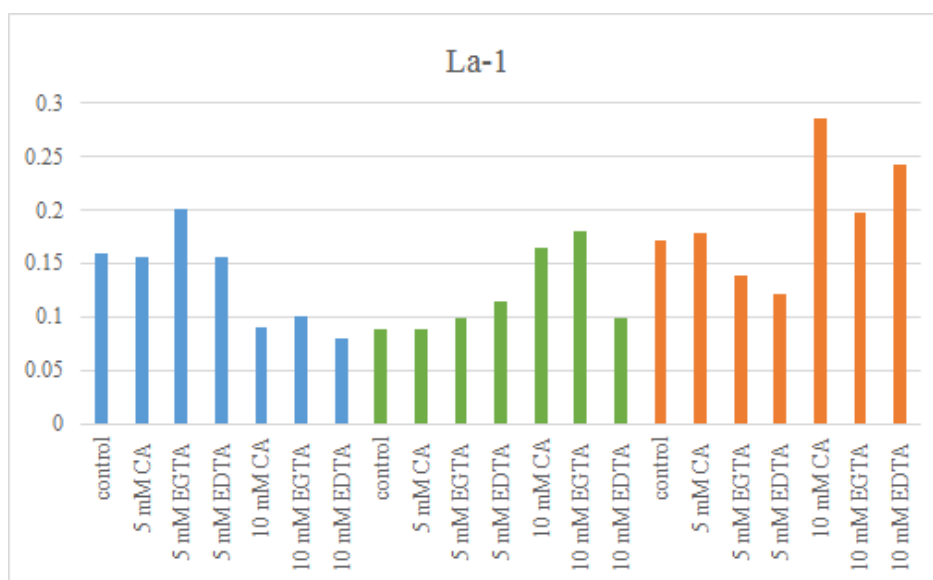


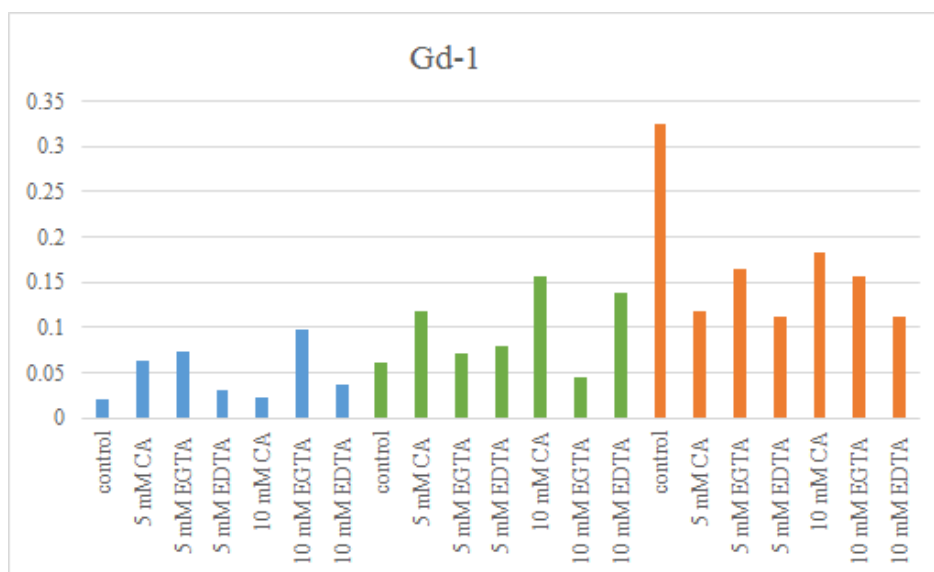
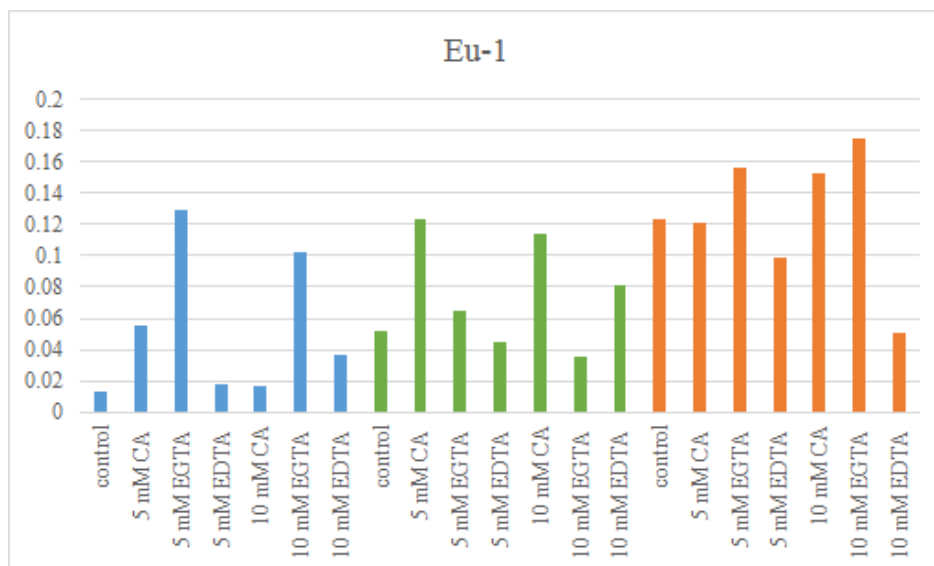
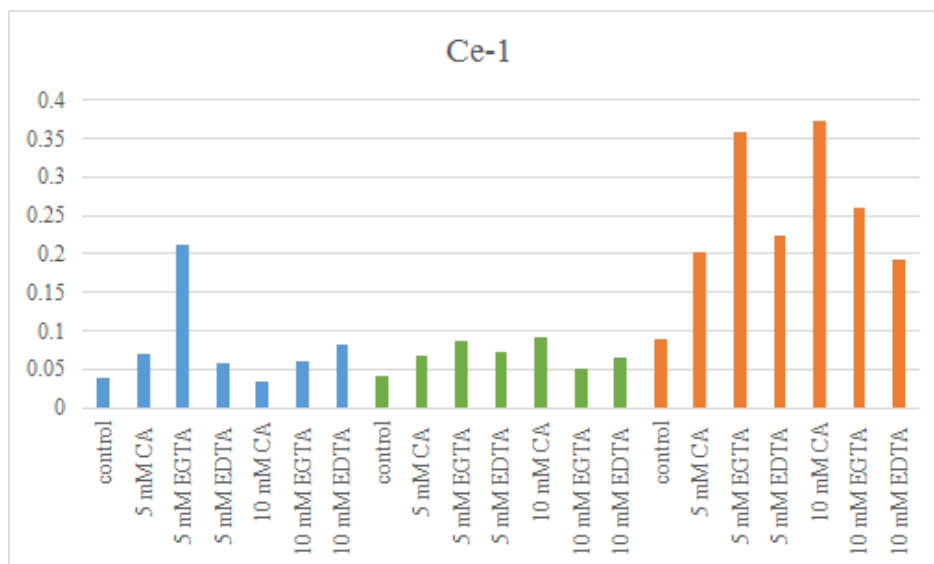


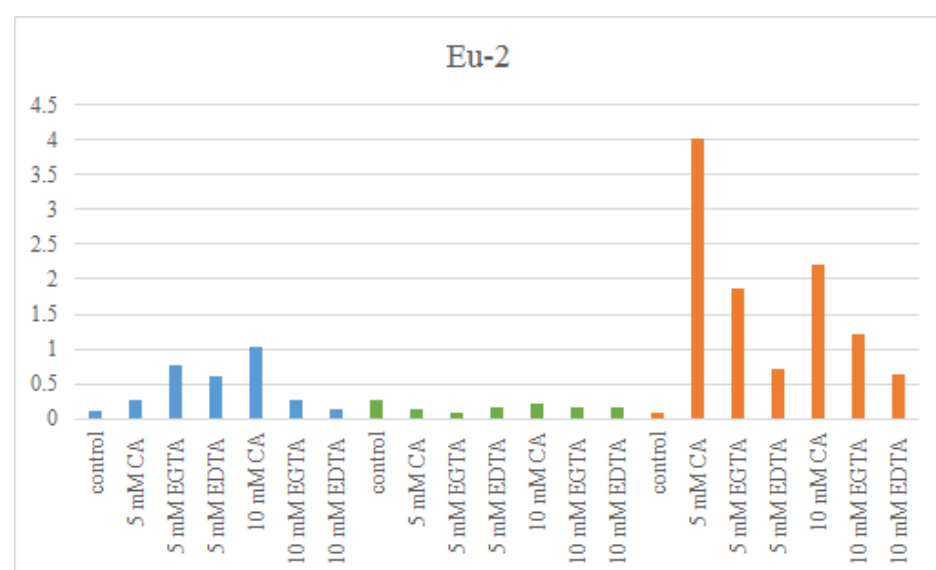
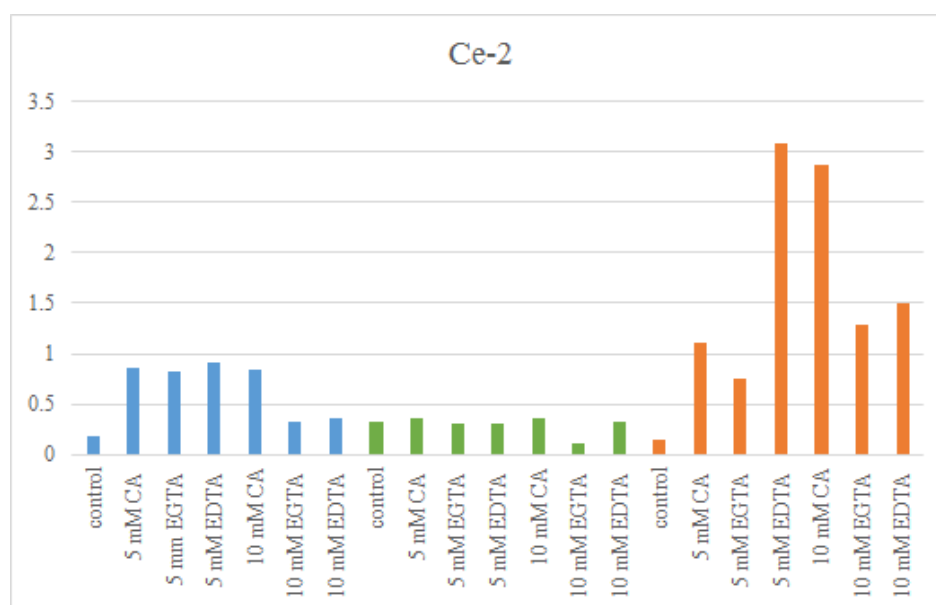
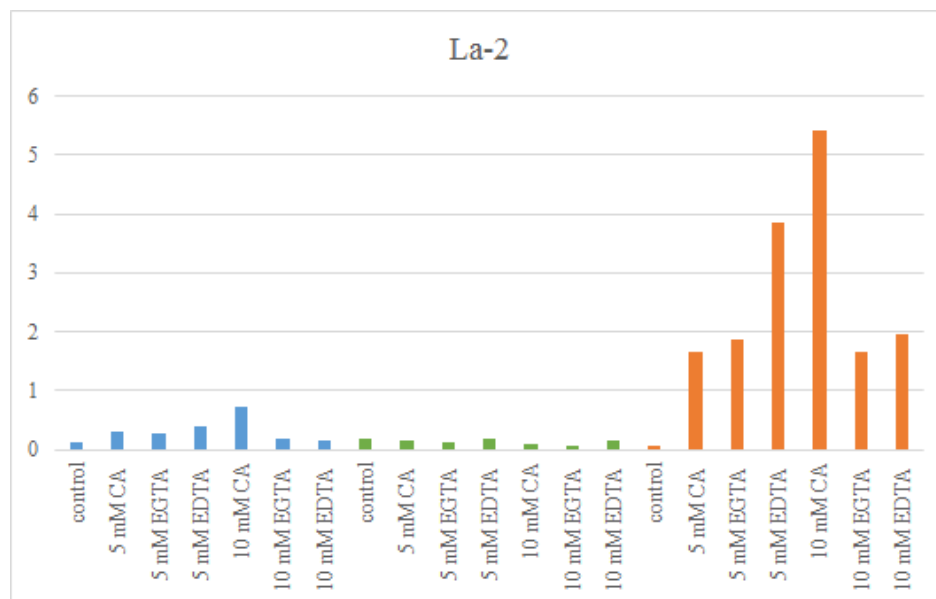


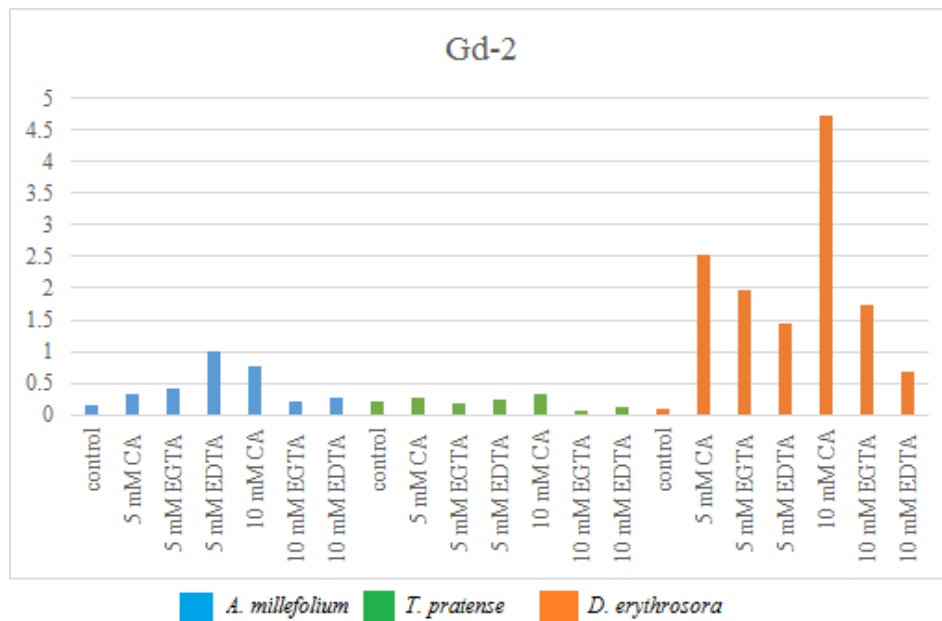


Rysunek 4 Współczynnik biokoncentracji (BCF) dla La, Ce, Eu i Gd dla *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense*, *Dryopteris erythrosora* rosnącego w dwóch podłożach. Skład podłoży: podłoże 1 – 95% gleba, 5% kompost; podłoże 2 – 30% popiół z elektrowni, 20% – kompost, 50 torf. Oznaczenia: La-1, Ce-1, Eu-1, Gd-1 oznaczają zawartość La, Ce, Eu, Gd w podłożu 1 oraz La-2, Ce-2, Eu-2, Gd-2 oznaczają zawartość La, Ce, Eu, Gd w podłożu 2 (Gmur i in. 2025b)









Rysunek 5 Współczynnik translokacji (TF) dla La, Ce, Eu i Gd dla *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense*, *Dryopteris erythrosora* rosnącego w dwóch podłożach. Skład podłoży: podłoże 1 – 95% gleba, 5% kompost; podłoże 2 – 30% popiół z elektrowni, 20% – kompost, 50 torf. Oznaczenia: La-1, Ce-1, Eu-1, Gd-1 oznaczają zawartość La, Ce, Eu, Gd w podłożu 1 oraz La-2, Ce-2, Eu-2, Gd-2 oznaczają zawartość La, Ce, Eu, Gd w podłożu 2 (Gmur i in. 2025b)

5. DYSKUSJA

Szybki wzrost eksploatacji surowców mineralnych oraz zastosowanie REE we współczesnym przemyśle może znacząco przyczynić się do wzrostu tych metali w środowisku. Wyższe zawartości REE w ekosystemach pojawiają się na skutek wzmożonej działalności przemysłowej czy górniczej, a także na obszarach znajdujących się w pobliżu dużych miast (Ramos i in. 2016). W niniejszym badaniu wykazano, że wyższe zawartości pierwiastków ziem rzadkich były zawarte w próbkach pochodzących z popiołów lotnych oraz gleb, pobranych z rejonów przemysłowych. Podwyższone zawartości REE w tych glebach mogą pochodzić zarówno z nieco wyższych ilości tych pierwiastków w skale macierzystej gleb na tym terenie (przyczyny naturalne), jak i opadu pyłów przemysłowych zawierających pewne ilości REE. W literaturze skupiano się na analizie potencjału zasobowego i ekonomicznego ekstrakcji REE z produktów ubocznych przemysłu i źródeł wtórnych. Wywnioskowano, że zawartości metali w źródłach wtórnych są w stanie zaspokoić globalny popyt nawet przy niskich wartościach wydobywania. Jako cenne pod tym względem źródła proponowano: fosfogips, popiół węglowy oraz czerwony szlam z produkcji aluminium (Gaustad i in. 2021). Lisiak-Zielińska i in. (2024) badali zawartość REE w trzech miastach w Polsce wybranych pod względem wielkości. Najwyższe zawartości REE (33,4 do 92,7 mg kg⁻¹) otrzymano dla Poznania (dużego miasta), dodatkowo dowiedziono, że zawartość tych metali jest bardziej związana ze specyficznymi warunkami gospodarczymi i przestrzennymi miast oraz użytkowania gruntów niż z wielkością miasta czy ilością mieszkańców. Karczewska i in. (2018) badali koncentrację sześciu lantanowców: La, Ce, Pr, Nd, Sm i Gd w glebach z wybranych rejonów górniczych w Polsce. Wykazano, że maksymalne stężenie lantanowców z gleby pobranej w obszarze Srebrnej Góry jest 2,6 – 2,9-krotnie wyższe niż globalne tło określone dla skorupy ziemskiej. Dodatkowo wywnioskowano, że są to na tyle niskie stężenia, które nie stwarzają ryzyka dla środowiska. W innym doświadczeniu badano popioły pochodzące z 5 źródeł w Japonii: popiołów z odpadów spożywczych, popiołów z odpadów zwierzęcych, popiołów z odpadów ogrodnich, popiołów z osadów ściekowych oraz popiołów paleniskowych ze spalarni. Zakres całkowitego REE znajdował się w przedziale 54 do 130 mg kg⁻¹ (Zhang i in. 2001). Franus i in. (2015) badali popioły lotne pod względem zawartości REE z dziesięciu polskich elektrowni. Stwierdzono, że surowce charakteryzują się stosunkowo wysokimi koncentracjami metali ziem rzadkich i można je uznać jako obiecujące surowce REE. W

innych badaniach jako potencjalne źródło REE wzięto pod uwagę odpady komunalne oraz odpady handlowe i przemysłowe. Otrzymane stężenia wynosiły do 58 mg kg⁻¹ REE, co jest dość niskim stężeniem w porównaniu do stężeń znajdujących się w rudach i nie pozwala na opłacalną ekstrakcję dla odzysku komercyjnego (Gutiérrez-Gutiérrez 2015).

Planując fitoremediację obszaru ważne jest aby wziąć pod uwagę parę czynników wpływających na sukces procesu. Jednym z nich jest wielkość biomasy wykorzystanych gatunków roślin. W niniejszym doświadczeniu największy przyrost biomasy uzyskano dla *Z. mays* oraz dla *T. pratense*. W obu przypadkach większy wzrost roślin odnotowano dla podłoża zawierającego glebę w porównaniu do pozostałych substratów na bazie odpadów przemysłowych. Gleba wzbogacona o kompost zapewniała lepsze warunki wzrostu roślin, poza *S. alba*, niż podłoża uzyskane na bazie odpadów przemysłowych, przy czym również na tych podłożach przyrosty biomasy były w wielu przypadkach zadowalające, pomimo wyższego pH podłoża od optymalnego dla tych gatunków roślin.

Kluczowym czynnikiem, decydującym o rozpuszczalności oraz biodostępności metali w środowisku glebowym jest odczyn pH. Czynnikiem ten wpływa na wiele procesów biogeochemicznych w glebie, które następnie oddziałują na wzrost i rozwój roślin, w tym dostępność lub mobilność pierwiastków. Dotychczasowe badania wykazały, że jeśli wartość pH spadnie poniżej 6,0 rozpuszczalność i biodostępność metali wyraźnie wzrasta (Netty i in. 2016). Gdy podłoże charakteryzuje się niższym odczynem pH, metale mają tendencję do większej rozpuszczalności ze względu na wysoką desorpcję oraz niską adsorpcję. Natomiast wraz ze wzrostem pH wzrasta tendencja do adsorpcji metali, począwszy od ograniczonej adsorpcji przez składniki gleby do prawie całkowitej adsorpcji w wąskim zakresie pH, nazywanym krawędzią adsorpcji pH. Doniesienia w literaturze wskazują na ścisłą zależność pomiędzy wzrostem pH gleby a spadkiem rozpuszczalności większości pierwiastków (Clemente i in. 2003, Neina i in. 2019). W niniejszym badaniu podłoża z dodatkiem gleby odznaczały się niższym i bardziej optymalnym dla wzrostu roślin pH w porównaniu do substratów na bazie odpadów przemysłowych. Dodatkowymi czynnikami, które mogły ograniczać wzrost i rozwój roślin oraz akumulację przez nie metali były: niekorzystny skład mechaniczny popiołu, wysokie stężenia potencjalnie toksycznych pierwiastków (takich jak: As, B, Cd, Cu, Hg, Mn, Mo, Pb) oraz potencjalnie niedobory składników odżywczych, takich jak azot czy fosfor w formach dostępnych dla roślin (Xu i in. 2006).

W przeprowadzonym doświadczeniu bez dodatku chelatów rośliny akumulowały dość małe ilości REE. Dodatkowo większe stężenia były akumulowane w częściach podziemnych w porównaniu do części nadziemnych. Dystrybucja metali między głównymi organami roślin naczyniowych jest na ogół zróżnicowana. Zazwyczaj zawartość metali rozkłada się następująco: korzenie > pędy > liście (Challaraj i in. 2019). Pierwiastki ziem rzadkich mogą być akumulowane przez korzenie ze względu na podobne promienie jonowe, które dzielą z wapniem. Metale te mogą zastępować cząsteczki Ca w kilku procesach fizjologicznych, odpowiedzialnych między innymi za wzrost i rozwój roślin (Carpender i in. 2015). Sugeruje się, że niskie stężenia metali ziem rzadkich mogą oddziaływać stymulująco na wzrost roślin, podczas gdy wysokie stężenia mają negatywny wpływ na rozwój roślin i fitoekstrakcję metali. Na podstawie przeglądu literatury można wywnioskować, że istnieją ograniczone dane na temat wpływu różnych zawartości REE na rośliny, co utrudnia porównanie fitoekstrakcji metali przez różne gatunki roślin (Zulfigar i in. 2019). Przykładowo wykazano, że La może indukować hormezę u *Glycyce max* L., *Oryza sativa* L. oraz *Vicia faba* L. (Agathokleus i in. 2019). Stężenia REE w pospolitych roślinach w warunkach naturalnych są zazwyczaj niskie i wynoszą zazwyczaj $10^{-3} - 10^{-1} \mu\text{g g}^{-1}$ s.m. Jednak na obszarach górniczych poziom pierwiastków ziem rzadkich w organach roślin jest wyższy ze względu na wyższą zawartość metali w tych obszarach (Liu i in. 2021). Dodatek odpadów przemysłowych nie zwiększył poziomu akumulacji REE w roślinach. Podobne wyniki uzyskano w badaniach z dodatkiem popiołu lotnego (He i in. 2019), gdzie podmiotem badań były dwa gatunki roślin: lucerna siewna (*Medicago sativa* L.) oraz wyka mleczna (*Astragalus adsurgens* Pall.). Stwierdzono, że dodanie popiołu lotnego do gleby nie zawsze wpływa stymulująco na wzrost akumulacji REE w roślinach w porównaniu do roślin rosnących na glebie.

Le Jean i in. (2023) prowadzili badania nad pobieraniem wybranych REE z gleby przez *Dryopteris erythrosora*. Wykazano, że paproć akumulowała: La $11,79 \text{ mg kg}^{-1}$ s.m., 39,41 mg kg^{-1} s.m. i Gd $1,05 \text{ mg kg}^{-1}$ s.m. Wartości te były wyższe od zawartości REE zmierzonych w niniejszych badaniach. Innym przykładem naturalnego hiperakumulatora pierwiastków ziem rzadkich jest *Dicranopteris linearis*. Doświadczenie przeprowadzone w południowych Chinach wykazało, że *D. linearis* jest zdolna do akumulacji ponad 1000 mg kg^{-1} REE z zarówno wzbogaconego jak i niewzbogaconego podłoża. Obliczony BCF dla paproci mieścił się w przedziale 1,11 do

14,8, a TF 1,31 do 19,6 (Liu i in. 2021). Należy przypuszczać, że ekotyp *D. linearis* wykorzystany w badaniach Liu i in. (2021) miał większe naturalne zdolności do akumulacji REE. Natomiast *Phytolacca americana* L., bylina naturalnie rosnąca w obszarze wydobycia pierwiastków ziem rzadkich (kopalnia REE z absorpcją jonów) akumulowała do 1040 mg kg⁻¹ tych pierwiastków w swoich liściach (Yuan i in. 2018). Grosjean i in. (2019) skupili swoje badania na rodzaju *Phytolacca* pod względem ich reakcji na pierwiastki ziem rzadkich. Zauważono, że REE nie wywiera szkodliwego wpływu na rośliny, które akumulują w swoich częściach nadziemnych metale, w związku z tym zaproponowano *Phytolacca* jako gatunek użyteczny w fitoremediacji terenów skażonych metalami ziem rzadkich. Azizi i in. (2023) skupili swoje badania na czterech gatunkach roślin *Salsola oppositifolia*, *Stipa tenacissima*, *Piptatherum miliaceum* i *Artemisia herba-alba* rosnących w pobliżu kopalni rud Pb, Ag i Zn. Wykazano, że powyższe gatunki, z wyjątkiem *A. herba-alba* nie są zdolne do fitoekstrakcji REE, jednak mają potencjał fitostabilizacyjny.

Oceniając bezpośrednie efekty zastosowanych chelatów (CA, EGTA, EDTA) na wzrost roślin oraz akumulację REE, trudno jest wyciągnąć jednoznaczne wnioski. Efekty były specyficzne dla roślin. Przykładowo przegląd dostępnej literatury dostarcza niejednoznacznych informacji na temat wpływu EDTA na wzrost roślin, ponieważ zgłaszano zarówno efekty toksyczne, jak i ochronne (Saleem i in. 2020). Nasze dane sugerują, że dawki zastosowanych chelatów (5 mM i 10 mM) generalnie nie są szkodliwe dla badanych gatunków roślin, jednak wrażliwość roślin może być różna. *A. millefolium* zareagował niewielkim spadkiem biomasy, rozwój *T. pratense* został pobudzony wprowadzeniem chelatów, gdy rósł w glebie, a reakcja *D. erythrosora* była specyficzna dla chelatu.

Naturalne oraz syntetyczne chelaty są szeroko stosowane w technikach fitoremediacyjnych w celu zwiększenia biodostępności metali, a w konsekwencji ekstrakcji i translokacji metali do pędu (Novo i in. 2017). W badaniach Ozaki i in. (2002) po dodaniu chelatów: NTA, kwasu mlekowego i kwasu bursztynowego do pożywki zawierającej Y, Ce, Pm, Eu, Gd, Lu i Yb zawartość metali w *D. erythrosora* wzrosła w porównaniu do kontroli. Nawaz i in. (2022) zbadali przydatność *Brassica napus* w fitoremediacji Ni przy użyciu dwóch chelatorów: 10 mM CA i 1,5 mM EDTA. Badania wykazały większą akumulację metalu przez rośliny traktowane EDTA w porównaniu do

CA. Ponadto wykazano, że dodatek chelatów łagodził toksyczne działanie Ni na rzepak. Ibrahim (2023) badał wpływ kwasu cytrynowego (CA) na zdolności fitoekstrakcyjne dyni (*Cucurbita pepo* L.) w glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi. Zastosowanie CA znacząco poprawiało wzrost roślin, ich biomasę i pobieranie metali ciężkich. W innych badaniach wzbogacenie gleby niskocząsteczkowymi kwasami organicznymi: histydynowym, jabłkowym i cytrynowym zwiększyło stężenie lekkich REE u *D. dichotoma* o 21 – 78% w porównaniu z grupą kontrolną (Shan i in., 2003). Kolejne badania skupiły się na wpływie kwasu asparaginowego/aspartanowego, asparaginy, histydyny i kwasu glutaminowego na transport z ksylemu La i Y na dłuższe odległości w tkankach *P. americana* L. Dodatkowo badano oddziaływanie powyższych związków na pomidor. Wykazano, że kwas asparaginowy/aspartanowy i asparagina zwiększyły zawartość La o 449 µg i 139 µg w porównaniu do *P. americana* (Wu i in. 2013). Na podstawie przeglądu literatury można stwierdzić, że stosowanie chelatów zwiększa mobilność pierwiastków w glebie, co może powodować ich wymywanie do wód gruntowych. Podobne zjawisko może dotyczyć samych chelatów, które mogą oddziaływać niekorzystnie na jakość wód i wrażliwe organizmy żywe. Dlatego rekomendowane byłoby stosowanie chelatów wyłącznie w kontrolowanych systemach, takich jak te zostały zastosowane w przedstawianych badaniach, w których nie następuje wymywanie pierwiastków i chelatów do wód gruntowych.

Aby ocenić zdolność rośliny do pobierania metali obliczany jest współczynnik biokoncentracji (BCF). Jest to stosunek pomiędzy stężeniami pierwiastków w tkankach rośliny (korzenie, pędy) a zawartością w podłożu, w którym rośnie roślina. Kolejnym współczynnikiem użytecznym w ocenie fitoekstrakcji jest współczynnik translokacji (TF). To parametr definiujący wydajność rośliny w przenoszeniu metali z korzeni do pędów. Jeśli stosunek zawartości metali w korzeniu do innych organów rośliny oraz stosunek zawartości metali w tkankach roślinnych do podłoża są większe od 1, roślinę można sklasyfikować jako szczególnie przydatną do fitoekstrakcji, ze względu na wysoką efektywność procesu. W praktyce możliwe jest zebranie i usunięcie z miejsca nadziemnych części rośliny, w których gromadzą się metale oraz ich odzysk (Krgović i in. 2015). W eksperymentach najwyższy współczynnik TF obliczono dla *D. erythrosora*, zaliczanego do paproci. Wykazano, że paprocie są bardziej odporne na toksyczne oddziaływanie lantanowców w porównaniu do innych grup roślin. Ponadto system korzeniowy paproci uwalnia do matrycy glebowej kwasy organiczne (m. in. kwas

cytrynowy czy kwas jabłkowy), które wspomagają rozpuszczalność REE, sprawiając, że są bardziej dostępne dla roślin (Tyler 2004). Dodatkowo La ma korzystny wpływ na wzrost *D. erythrosora* i jest magazynowany w komórkach mezofilu. Dotychczas wykazano, że u paproci pierwiastki ziem rzadkich są transportowane z korzeni do liści za pośrednictwem soku ksylemowego, a następnie magazynowane w układzie naczyniowym ksylemu (Ozaaki i in. 2000).

Innym gatunkiem rośliny, dla której otrzymano współczynnik $TF > 1$ była *T. pratense*, jednak po zastosowaniu chelatów w doświadczeniu 2 współczynnik TF był niższy niż 1. W badaniach Cakaj i in. (2023) zastosowano *T. pratense* w fitoremediacji metali ciężkich na obszarze miejskim. Wyliczony został TF, który był wyższy niż 1 dla Cr (7,42 i 1,95) oraz Ni (4,03 i 1,99). Rośliny w niniejszym eksperymencie nie wykazywały znacznej zdolności do dystrybucji metali pomiędzy organami. W większości przypadków akumulacja REE pozostawała na poziomie części podziemnych roślin, za wyjątkiem *D. erythrosora* na podłożu 2 po dodaniu chelatów, dla której TF w większości przypadków był wyższy od 1.

Podobnie wartości BCF były niskie dla całego doświadczenia, co świadczy o utrudnieniach w pobieraniu metali z podłoża przez rośliny. W badaniach Zhang i in. (2023) wykazano, że stężenia REE u *Tagetes erecta* L. mieściły się w przedziale 0,75 – 20,26 mg kg⁻¹. Dodatkowo został obliczony współczynnik BCF, który dla REE był niższy niż 1. Potwierdza to wyniki uzyskane dla *Tagetes* sp. w doświadczeniu 1.

W doświadczeniu 1 dodanie odpadów przemysłowych do podłoża, mimo wyższej zawartości REE w porównaniu do podłoża zawierającego glebę, nie miało stymulującego wpływu na akumulację REE przez rośliny. Na niskie wartości uzyskanych współczynników prawdopodobnie wpłynęło kilka czynników, w tym zasadowe pH substratu, potencjalna toksyczność innych metali, konkurencja ze strony składników odżywczych i innych metali oraz inaktywacja REE przez związki żelaza lub glinu. Ponadto metale ziem rzadkich według aktualnego stanu wiedzy nie są niezbędne dla roślin. Pobieranie i akumulacja REE zależą od gatunku rośliny i jej morfologii (Kotelnikova i in. 2021). Dodatek chelatów do podłoża również nie poprawiał szczególnie wyraźnie pobierania i akumulacji REE przez rośliny. Zdecydowanie najwyższe zawartość REE w roślinach zaobserwowano w przypadku gleby, do której

wprowadzono REE w postaci soli, w wyniku czego dostępność REE dla roślin była o wiele wyższa niż w przypadku innych podłoży. Taką dostępność trudno byłoby uzyskać w warunkach rzeczywistych lub przy wykorzystaniu badanych odpadów przemysłowych, jednak wariant ten dostarczył informacji, że badane rośliny nie wykazują objawów toksyczności REE na poziomach ich zawartości sięgających 40 – 60 mg danego pierwiastka na kg s.m. rośliny.

6. WNIOSKI

1. Spośród badanych odpadów najwyższe zawartości pierwiastków ziem rzadkich wykazano w popiołach lotnych z sektora energetycznego, które przedstawiają największą wartość jako wtórne źródło REE.
2. Rośliny pobierają pierwiastki ziem rzadkich w sposób zróżnicowany, zależnie od gatunku lub zastosowanego podłoża. Najefektywniejszą rośliną pod względem akumulacji REE okazała się *D. erythrosora*, w której zmierzono wyższe zawartości REE i charakteryzowała się wyższymi wskaźnikami TF i BCF niż pozostałe rośliny.
3. Rodzaj podłoża i źródło REE wpływają istotnie na pobieranie i akumulację REE przez rośliny. Zdecydowanie największą akumulację REE w roślinach wykazano w przypadku podłoża glebowego wzbogaconego w REE w postaci roztworów soli tych pierwiastków. Testowane rośliny wykazywały największą biomasę również przy zastosowaniu podłoża glebowego, choć obserwowany rozwój roślin na podłożach wytworzonych z odpadów nie wyklucza wykorzystania również tego typu podłoży w procesach fitoodzysku.
4. Zawartość akumulowanych REE w roślinach była z reguły wyższa w podziemnych częściach roślin w porównaniu do partii nadziemnych.
5. Zastosowane chelaty: CA, EGTA i EDTA oddziaływały specyficznie dla danego gatunku rośliny i użytego substratu. Wykazano, że chelaty mogą zwiększać poziom akumulacji REE w roślinach, jednak efekt ten nie jest jednakowy dla wszystkich roślin. Dalsze prace powinny koncentrować się na doborze optymalnych chelatów i ich dawek dla poszczególnych roślin. Należy również poszukiwać odpadów o wyższych zawartościach REE oraz metod tworzenia podłoży zapewniających bardziej sprzyjające warunki do pobierania REE przez rośliny, np. o niższym pH.
6. Najwyższy wskaźnik BCF po dodaniu chelatów uzyskano dla *T. pratense* (Gd, 5 mM EGTA, podłoże 1), natomiast wskaźnik TF = 5,42 dla *D. erythrosora* (La, 10

mM CA, podłoże). Współczynniki biokoncentracji (BCF) i translokacji (TF) w przedstawionych badaniach dla większości roślin wynosiły poniżej 1, co wskazuje, że testowane rośliny nie posiadają specyficznych właściwości do gromadzenia dużych ilości REE przy ich uprawie na podłożach charakteryzujących się niską dostępnością REE. Zawartości RE w roślinach wykazane w przypadku podłoża glebowego wzbogaconego solami REE wskazują, że testowane rośliny tolerują dość wysokie zawartości tych pierwiastków w nadziemnych częściach.

7. LITERATURA

1. Adeel M., Lee J. Y., Zain M., Rizwan M., Nawab A., Ahmad M. A., Shafiq M., Yi H., Jilani G., Javed R., Horton R., Rui Y., Tsang D. C. W., Xing B. 2019. Cryptic footprints of rare earth elements on natural resources and living organisms. *Environment International*, 127, 785-800.
2. Agathokleus E., Kitao M., Calabrese E. J. 2019. Hormetic dose response induced by lanthanum in plants. *Environmental pollution*, 244, 332-341.
3. Azizi M., Faz A., Zornoza R., Martinez-Martinez S., Acosta J.A. 2023. Phytoremediation potential of native plant species in mine soils polluted by metal(loid)s and rare earth elements. *Plants*, 12(6), 1219.
4. Balaaram V. 2019. Rare earth elements: a review of applications, occurrence, exploration, analysis, recycling, and environmental impact. *Geoscience Frontiers*, 10(4), 1285-1303.
5. Cakaj A., Hanć A., Lisiak-Zielińska, M., Borowiak K., Drapikowska M. 2023. *Trifolium pratense* and the heavy metal content in various urban areas. *Sustainability*, 15(9), 7325.
6. Carpenter D., Boutin C., Allison J.E., Parsons J.L., Ellis D.M. 2015. Uptake and effects of six rare earth elements (REEs) on selected native and crop species growing in contaminated soils. *PLoS One*, 10, 0129936.
7. Challaraj E.S., Anandkumar B., Natesan M., Maruthamuthu S. 2019. Efficacy of rare earth elements on the physiological and biochemical characteristics of *Zea mays* L. *Australian Journal of Crop Science*, 4(4), 289-294.
8. Clemente R., Piechur D. J., Bernal M. P. 2003. Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Spain): The effect of soil amendments. *Environmental Pollution*, 138, 46-58.
9. Dinh T., Dobo Z., Kavacs H. 2022. Phytomining of rare earth elements- A review. *Chemosphere*, 297, 134259.

10. Egler S. G., Niemeyer J. C., Correia F. V. 2022. Effects of rare earth elements (REE) on terrestrial organisms: current status and future directions. *Ecotoxicology*, 31, 689–699.
11. El-Remady H. R. 2010. *Ecotoxicology of rare earth elements: ecotoxicology of rare earth elements within soil and plant environments*. VDM-Verlag Dr. Mueller, Germany, ISBN-No. 978-3-639-23680-4.
12. Franus W., Wiatros-Motyka M. M., Wdowin M. 2015. Coal fly ash as a resource for rare earth elements. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 9464–9474.
13. Gaustad G., Williams E., Leader A. 2021. Rare earth metals from secondary sources: Review of potential supply from waste and byproducts. *Resources, Conservation and Recycling*, 167, 105213.
14. Gmur G., Siebielec G. Pecio M. 2025a. Differences in accumulation of rare earth elements by plants cultivated in soil and substrates from industrial waste materials. *Plants*, 14(4), 589.
15. Gmur G., Siebielec G. Pecio M. 2025b. Chelate-induced accumulation of rare earth elements in plants grown on soil and ash-based growind media. *Current Agronomy*, 2, 1-17.
16. Grobelak A., Kacprzak M., Fijałkowski K. 2010. Phytoreme diation the underestimated potential of plants in cleaning up the environment. *Journal of Ecology and Health*, 14(6), 276-280.
17. Gutiérrez-Gutiérrez G. S., Coulon F., Jiang Y., Wagland S. 2015. Rare earth elements and critical metal content of extracted landfilled material and potential recovery opportunities. *Waste Management*, 42, 128-136.
18. Harmon S. M. 2022. Biodegradable chelate-assisted phytoextraction of metals from soils and sediments. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 37, 100677.

19. He H., Fan C., Peng Q., Wu M., Zheng J., Wu G. L. 2019. Bioaccumulation and translocation of rare earth elements in two forage legumes grown in soils treated with coal fly ash. *Chemical Geology*, 528, 119284.
20. Hy X., Ding Z., Chen Y., Wang X., Dai L. 2002. Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Chemosphere*, 48, 621-629.
21. Ibrahim E. A., 2023. Effect of citric acid on phytoextraction potential of *Cucurbita pepo*, *Legenaria siceraria*, and *Raphanus sativus* plants exposed to multi-metal stress. *Scientific Reports*, 13, 13070.
22. Jalali J., Lebeau T., 2021. The role of microorganisms in mobilization and phytoextraction of rare earth elements: a review. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 688430.
23. Karczewska A., Lewińska K., Siepak M., Gałka B.. 2018. Lanthanides in soils of historical mining sites in Poland *Polish Journal Environment Study*, 28(3), 1517-1522.
24. Khan A. M., Yusof I., Abu Bakar N. K., Abu Bakar A. F., Alias Y., Mispan M. S. 2017 Accumulation, uptake and bioavailability of rare earth elements (REEs) in soil grown plants from ex-mining area in Perak Malaysia. *Applied Ecology & Environmental Research*, 15(3), 117-133.
25. Koltun P., Tharumarajah A. 2014. Life cycle impact of rare earth elements. *International Scholarly Research Notices*, 907536.
26. Kotelnikova A. D., Ragova O. B., Stolbova V. V. 2021. Lanthanides in the soil: routes of entry, content, effect on plants, and genotoxicity (a review). *Degradation, Rehabilitation, and Conservation of Soils*, 54, 117-134.
27. Krgović R., Trifković J., Milojković-Opsenica D., Manojlović D., Marković M., Mutić J. 2015. Phytoextraction of metals by *Erigeron canadensis* L. from fly ash landfill of power plant “Kolubara”. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 10506–10515.

28. Krzciuk K. 2015. Hyperaccumulators-their characteristics, research and practical importance. *Kosmos*, 64(2), 293-304.
29. Le Jean, M., Montargès-Pelletier E., Rivard C., Grosjean N., Chalot M., Vantelon D., Spiers K.M., Blaudez D. 2023. Locked up inside the vessels: rare earth elements are transferred and stored in the conductive tissues of the accumulating fern *Dryopteris erythrosora*. *Environmental Science & Technology*, 57(7), 2768-2778.
30. Liang T., Li K., Wang T. 2014. State of rare earth elements in different environmental components in mining areas of China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(3), 1499-513.
31. Lisiak-Zielińska M., Borowiak K., Budka A., Cakaj A., Hanć A., Wiatrowska K. 2024. Rare earth elements and landscape: Is there a relationship between them? – New evidence from Poland (Eastern Europe). *Ecological Indicators*, 1470, 111642.
32. Liu S. L., Fan H. R., Liu X., Meng J., Butcher R. B., Yann L., Yang K. F., Li X. C. 2023. Global rare earth elements projects: New developments and supply chains. *Ore Geology Reviews*, 157, 105428.
33. Liu W., Zheng H., Liu C., Guo M., Zhu S., Cao Y., Qiu R., Morel J. L., van der Ent A., Tang, Y. 2021. Variation in rare earth element (REE), aluminium (Al.) and silicon (Si) accumulation among populations of the hyperaccumulator *Dicranopteris linearis* in southern China. *Plant and Soil*, 461, 565-578.
34. Mahar A. M., Ali A., Lahori A. H., Wahid F., Li R., Azeem M., Fahad S., Adnan M., Rafiullah, Khan I.A., Zhang Z. 2020. Promising Technologies for Cd-contaminated soils: drawbacks and possibilities. *Environment, Climate, Plant and Vegetation Growth*. Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-030-49732-3_3.
35. Massari S. Ruberti M. 2013. Rare earth elements as critical raw materials: Focus on international markets and future strategies. *Resources Policy*, 38 (1), 36-43.
36. Muthusaravanan, S., Sivarajasekar, N., Vivek, J. S. 2018. Phytoremediation of heavy metals: mechanisms, methods and enhancements. *Environmental Chemistry Letters*, 16, 1339–1359.

37. Neina D. 2019. The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation. *Applied and Environmental Soil Science*, doi: 10.1155/2019/5794869.
38. Netty S., Wardiyati T., Maghfoer M.D., Handayanto E. 2013. Bioaccumulation of nickel by five wild plant species on nickel-contaminated soil. *Journal of Engineering*, 3(5), 2278-8719.
39. Novo L. A. B., Castro P. M. L., Alvarenga P., da Silva E. F. 2017. Phytomining of rare and valuable metals. *Phytoremediation*. Springer, Cham, 1, 469–486.
40. Opare E. O., Struhs E., Mirkouei, A. 2021. A comparative state-of-technology review and future directions for rare earth element separation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 143, 1364-0321.
41. Ozaki T., Enomoto S., Minai Y., Ambe A., Ambe F., Makide Y. 2000. Beneficial effect of rare earth elements on the growth of *Dryopteris erythrosora*. *Journal of Plant Physiology*, 156, 330-334.
42. Rabbani M. T., Muthoni F., Sun Y., Vahidi E. 2024. Advancing phytomining: harnessing plant potential for sustainable rare earth element extraction. *Bioresource Technology*, 401, 130751.
43. Ramos S. J., Dinali G. S., Oliveira C. 2016. Rare earth elements in the soil environment. *Current Pollution Report*, 2, 28–50.
44. Saleem M. H., Ali S., Kamran M., Iqbal N., Azeem M., Tariq J. M., Ali Q., Zulqurnain H. M., Irshad S., Rizwan M., Alkahtani S., Abdel-Daim M., 2020. Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) mitigates the toxic effect of excessive copper concentrations on growth, gaseous exchange and chloroplast ultrastructure of *Corchorus capsularis* L. and improves copper accumulation capabilities. *Plants (Basel)*, 9(6), 756.
45. Shan X., Wang H., Zhang S., Hanfa Z., Yan Z., Yu H., Bei W. 2003. Accumulation and uptake of light rare earth elements in a hyperaccumulator *Dicranopteris dichotoma*. *Plant Science*, 165(6), 1343-1353.

46. Suman J., Suman O., Ondrej U., Jitka U., Jitka V., Tomas V., Tomas M. 2018. Phytoextraction of heavy metals: a promising tool for clean-up of polluted environment. *Frontiers in Plant Science*, 9, doi: 10.3389/fpls.2018.01476.
47. Sytar O., Ghosh S, Malinska H., Zivcak M., Brestic M. 2020. Physiological and molecular mechanisms of metal accumulation in hyperaccumulator plants. *Physologia Plantarum*, 171(1), 148-166.
48. Tahmasbian I., Safari S. A. A. 2016. Improving the efficiency of phytoremediation using electrically charged plant and chelating agents. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 2479-2486.
49. Takarina N. D., Pin D. G. 2017. Bioconcentration Factor (BCF) and Translocation Factor (TF) of heavy metal Mangrove trees of Blankan Fish Farma. *Makara Journal Science*, 21, 78–81.
50. Tyler G. 2004. Rare earth elements in soil and plant systems - A review. *Plant Soil*, 267, 191–206.
51. van der Ent A., Pollard A. J., Echevarria G., Abubakari F., Erskine P. D., Baker J. M., Rogers R. D. 2021. Exceptional uptake and accumulation of chemical elements in plants: extending the hyperaccumulation paradigm. *Agromining: Farming for Metals*, 1, 99-131.
52. Wu J., Chen A., Peng S., Wei Z., Liu G., 2013. Identification and application of amino acids as chelators in phytoremediation of rare earth elements lanthanum and yttrium. *Plant and Soil*, 373, 329-338.
53. Xu J. M., Tang C., Chen Z. L. 2006. The role of plant residues in pH change of acid soils differing in initial pH. *Soil biology and biochemistry*, 28(4), 709-719.
54. Yuan M., Liu C., Liu W., Guo M., Morel J. L., Huot, H., Yu H., Tang Y., Qiu R. 2018. Accumulation and fractionation of rare earth elements (REEs) in the naturally grown *Phytolacca americana* L. in southern China. *International Journal of Phytoremediation*, 20(5), 415-423.
55. Zhang C., Geng N., Dai Y., Ahmad Z., Li Y., Han S., Zhang H., Chen J., Yang J. 2023. Accumulation and distribution characteristics of rare earth elements (REEs)

in the naturally grown marigold (*Tagetes erecta* L.) from the soil. Environmental Science and Pollution Research, 30, 46355-46367.

56. Zhang F. S., Yamasaki S., Kimura K. 2001. Rare earth element content in various waste ashes and the potential risk to Japanese soils, Environment International, 27(5), 393-398.

57. Zhao C., Yang J., Zhang X., Fang X., Zhang N., Su X., Pang H., Li W., Wang F., Pu Y., Xi Y. 2023. A human health risk assessment of rare earth elements through daily diet consumption from Bayan Obo Mining Area. China Ecotoxicology and Environmental Safety Volume, 266(1), 115600.

58. Zhou B., Li Z., Chen C. 2017. Global potential of rare earth resources and rare earth demand from clean technologies. Minerals, 7(11), 203.

59. Zulfigar, U., Farooq M., Hussain S., Maqsood M., Hussain M., Ishfaq M., Ahmad M., Anjum Z. 2019. Lead toxicity in plants: Impacts and remediation. Journal of Environmental Management, 250(15), 109557.

8. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Ocena występowania pierwiastków ziem rzadkich w glebach i odpadach oraz możliwości ich odzysku w procesie fitoekstrakcji

Słowa kluczowe: pierwiastki ziem rzadkich, fitoekstrakcja, zanieczyszczenie gleby, technika fitoremediacyjna, fitoekstrakcja wspomagana chelatami

Pierwiastki ziem rzadkich (REE- rare earth elements) to grupa 17 pierwiastków, w skład których wchodzi 15 lantanowców oraz 2 skandowce. Ze względu na szeroki zakres wykorzystania metali w dziedzinach, takich jak nowoczesne technologie, przemysł, medycyna czy rolnictwo, REE zostały zakwalifikowane przez Unię Europejską jako materiały krytyczne (CRM- critical raw materials).

Aktualnie w celu pozyskania REE wykorzystuje się tradycyjne metody wydobywcze. Wskutek tego wzrasta zainteresowanie naturalnymi metodami pozwalających na odzyskiwanie REE ze środowiska. Do takich metod są zaliczanie techniki fitoremediacyjne. Niniejsza praca skupia się na jednej z technik fitoremediacyjnych – fitoekstrakcji. Technika ta wykorzystuje rośliny do odzyskiwania metali z podłoża.

Hipoteza badawcza zakładała, że alternatywnym źródłem REE w środowisku mogą być składowiska różnych typów odpadów przemysłowych. Z kolei zastosowanie odpowiednich gatunków roślin oraz dodatków ułatwiających pobieranie REE z podłoża może prowadzić do opracowania optymalnych sposobów fitoekstrakcji tych pierwiastków z różnych podłoży. Głównym celem badań było określenie efektywności fitoekstrakcji pierwiastków ziem rzadkich (REE) z gleby oraz odpadów przemysłowych przez wybrane gatunki roślin.

Badania było podzielone na trzy etapy. W pierwszym etapie określono zawartości REE w odpadach i reprezentatywnych glebach. Następnie w pierwszym doświadczeniu szklarniowym badano różnice w akumulacji REE przez rośliny: krwawnik pospolity (*Achillea millefolium* L.), maruna bezwonna (*Tripleurospermum maritimum* (L.) W.D.J. Koch), kostrzewa trzcinowa (*Festuca arundinacea* Schreb.), nagietek (*Tagetes* sp.),

kukurydza (*Zea mays*), gorczyca biała (*Sinapsis alba*), konieczyna łąkowa (*Trifolium pratense* L.) oraz narecznica czerwonożawijkowa (*Dryopteris erythrosora* (D.C.Eaton) Kuntze) uprawianych na glebie oraz podłożach, których głównymi komponentami były popiół lotny oraz odpad poflotacyjny. W drugim doświadczeniu szklarniowym uwagę poświęcono określeniu efektywności pobierania i akumulacji REE przez: *A. millefolium*, *T. pratense* i *D. erythrosora* przy doglebowym zastosowaniu chelatów: CA, EGTA oraz EDTA. W tym eksperymencie zastosowano dwa podłoża, pierwsze zawierające glebę wzbogaconą chlorkami lantanowców oraz drugą zawierającą popiół lotny, wymieszany z kompostem i torfem.

Najwyższe zawartości REE zaobserwowano w popiołach lotnych i glebach a niższe w osadach ściekowych i żużlach. W doświadczeniach szklarniowych rośliny wykazały większe zawartości REE w podziemnych partiach w porównaniu do części nadziemnych. Wykazano, że rodzaj podłoża i źródło REE wpływają na pobieranie i akumulację REE przez rośliny. Dodatkowo wzrost roślin oraz akumulacja pierwiastków były nieco bardziej wydajne w podłożach zawierających glebę niż te, których głównymi komponentami były odpady przemysłowe. Rośliny pobierały dosyć niewielkie ilości REE. Dodatek chelatów nie wzmocnił znacząco akumulacji metali i był specyficzny dla gatunku rośliny i użytego substratu. Najefektywniejszą rośliną w całym doświadczeniu była *D. erythrosora*, której wyliczone współczynniki biokoncentracji (BCF) i translokacji (TF) były wyższe niż u pozostałych roślin. Z reguły wyliczone wskaźniki BCF i TF były mniejsze niż 1 dla większości badanych gatunków roślin. Najwyższy wskaźnik BCF = 0,47 uzyskano w pierwszym doświadczeniu szklarniowym dla *Zea mays* rosnącej na podłożu 1. Najwyższy wskaźnik TF uzyskano w drugim doświadczeniu szklarniowym TF = 5,42 dla *D. erythrosora* (La, 10 mM CA, substrat1).

Przeprowadzone badania dostarczyły wielu nie istniejących wcześniej informacji na temat pobierania oraz akumulacji pierwiastków ziem rzadkich przez rośliny, uwzględniając poszczególne gatunki i rodzaje podłoży. Informacje są cennym źródłem i przedmiotem do dalszych badań w tym kierunku. Dalsze prace powinny koncentrować się na doborze optymalnych chelatów i ich dawek dla poszczególnych roślin. Należy również poszukiwać odpadów o wyższych zawartościach REE oraz metod tworzenia podłoży zapewniających bardziej sprzyjające warunki do pobierania REE przez rośliny, np. o niższym pH.

9. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

Evaluation of the occurrence of rare earth elements in soils and waste and potential for their recovery through phyto-extraction

Keywords: rare earth elements, phytoextraction, contaminated soil, phytoremediation technique, chelate assisted phytoextraction

Rare earth elements (REE) are a group of 17 elements, which include 15 lanthanides and 2 scandiums. Due to the wide range of metal use in areas such as modern technologies, industry, medicine and agriculture, REE have been classified by the European Union as critical raw materials (CRM).

Currently, traditional mining methods are used to extract REE. As a result, there is a growing interest in finding natural methods that allow for the recovery of REE from the environment. Such methods include phytoremediation techniques. This paper focuses on one of the phytoremediation techniques – phytoextraction. This technique uses plants to recover metals from the substrate.

The research hypothesis assumed that an alternative source of REE in the environment may be landfills of various types of industrial waste. In turn, the use of appropriate plant species and additives facilitating the uptake of REE from the substrate may lead to the development of optimal methods of phytoextraction of these elements from various substrates. The main objective of the study was to determine the efficiency of phytoextraction of rare earth elements (REE) from soil and industrial waste by selected plant species

The research was divided into three stages. In the first stage, REE contents in waste and representative soils were determined. Then, in the first greenhouse experiment, differences in REE accumulation between plant species were studied: common yarrow (*Achillea millefolium* L.), false mayweed (*Tripleurospermum maritimum* (L.) W.D.J. Koch), tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.), marigold (*Tagetes* sp.), maize (*Zea mays*), white mustard (*Sinapsis alba*), red clover (*Trifolium pratense* L.) and autumn fern (*Dryopteris erythrosora* (D.C. Eaton) Kuntze) were grown on soil and substrates

composed with fly ash and flotation waste. In the second greenhouse experiment, the main attention was paid to determining the efficiency of REE uptake and accumulation by: *A. millefolium*, *T. pratense* and *D. erythrosora* after application of chelates: CA, EGTA and EDTA to the growing media. In this experiment, two substrates were used, the first containing soil enriched with lanthanide chlorides and the second containing fly ash.

It was demonstrated that higher REE contents were present in fly ash waste and soils compared to sewage sludge and slags. In greenhouse experiments, the obtained results provided information that plants accumulate higher REE contents in their underground parts compared to the above-ground parts. It was shown that the type of substrate affects the uptake and accumulation of REE by plants. Additionally, plant growth and accumulation of elements were slightly more efficient in case of substrates containing soil than from industrial waste based growing media. Plants accumulated quite low REE amounts. The addition of chelates did not significantly enhance metal accumulation and the effects was specific to the plant species and the substrate used. The most effective plant in the entire experiment was *D. erythrosora*, which was characterized by greater bioconcentration (BCF) and translocation factors (TF) than the other plants. In general, the calculated BCF and TF indices were lower than 1 for most of the tested plant species. The highest BCF index = 0,47 was obtained in the first greenhouse experiment for *Zea mays* (substrate 1). But the highest TF index = 5.42 was obtained in the second experiment for *D. erythrosora* (La, 10 mM CA, substrate2).

The conducted studies provided a lot of information, not existing before, on the uptake and accumulation of rare earth elements by plants, as dependent on individual plant species and types of substrates. The data obtained is a valuable information for further research. Further work should focus on selecting the optimal combinations of chelates and their doses for individual plants. We should also look for wastes with higher REE contents and methods of producing substrates that provide more favorable conditions for REE uptake by plants, e.g. with lower pH.

**10. KOPIE PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD ROZPRAWY
DOKTORSKIEJ**

Phytoextraction of rare earth elements

Dominika Gmur, Grzegorz Siebielec

Department of Soil Science Erosion and Land Protection, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute
Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, Poland

Abstract. Rare earth elements (REE) are a group of 17 elements with similar physicochemical properties. Most of the world's REE extraction belongs to China. Due to the growing demand for REE and limited resources, the European Commission has identified REE as critical materials. On the other hand, little is known so far about the possible effects of long-term exposure of living organisms and the ecosystem to REE. Therefore, potential solutions for the recovery of distributed REE are being sought. Phytoextraction is a method that allows the recovery of elements from the environment. For this purpose, two strategies are generally used: the use of plants with the natural ability to accumulate REE (hyperaccumulators) and the support of the process through the use of chelators. Twenty two species have been identified as REE hyperaccumulators, e.g. *Phytolacca americana*, *Dicranopteris linearis*, *Blechnum niponicum* or *Carya tomentosa*. For the total REE, an accumulation limit of 100 mg kg⁻¹ dry weight was established. Natural chelators are used as additives, e.g. humic acids or low molecular weight acids, as well as synthetic ones: EDTA or EGTA. In addition, the efficiency of the process is also influenced by other factors, such as the sorption capacity of the soil, the content of organic matter in the soil or soil pH. The aim of this article is to present the plant species useful in REE phytoextraction and the potential for enhancing the method with the use of chelators.

Keywords: rare earth elements, phytoextraction, hyperaccumulation, environmental remediation.

INTRODUCTION

REE (rare earth elements) are a group of 17 elements. This group includes 15 lanthanides from the third period of the periodic table of elements: lanthanum (La), cerium (Ce), praseodymium (Pr), neodymium (Nd), promethium (Pm), samarium (Sm), europium (Eu), gadolinium (Gd),

terbium (Tb), dysprosium (Dy), holmium (Ho), erbium (Er), thulium (Tm), ytterbium (Yb) and lutetium (Lu) and 2 scandiums – yttrium (Y), scandium (Sc). These elements have similar physical and chemical properties (Całus-Moszek, Białecka, 2012). REE in the environment constitute a fairly coherent group in terms of their chemical and physical properties. The exception is the promethium consisting solely of short-lived radioactive isotopes formed during atomic reactions. Pm is easily degraded radioactively, its half-life is 2.62 years. Promethium does not occur in nature (Castor, Hedrick, 2006).

Due to the differences in atomic mass, REE are divided into: light rare earth elements (LREE) and heavy rare earth elements (HREE). The first group includes elements from La to Eu, and the second group from Gd to Lu. In the environment, REE occur mainly in the form of silicates and phosphates. The main minerals which include lanthanides are: monazite, bastnasite, and gadolinite (Całus-Moszek, Białecka, 2012). REE form a group of lithophilic elements concentrated in the earth's crust. They are part of very durable and weather-resistant minerals. They appear collectively because they are trivalent (the exception are cerium and europium, which may also appear in the form of Ce⁴⁺ and Eu²⁺, respectively) and have similar ionic rays, thanks to which they can be mutually replaced in different crystal structures. Lanthanides with an even atomic number are more common in nature than those with an odd atomic number (Burchard-Dziubińska, 2014).

REE constitute the seventh most naturally occurring element in terms of fossil resources – their amount is comparable to gold or silver deposits. As a result, they are not as rare as their name suggests. The name refers rather to the fact that the REE deposits are very scattered and it is difficult to isolate them. The most abundant element is cerium being the 25th most abundant in the Earth's crust (Burchard-Dziubińska, 2014; Ramos et al., 2016). In 2019, REE global production was at the level of 210,000 tonnes. The largest share in the global production belonged to China (62%).

Corresponding author:

Dominika Gmur
e-mail: dgmur@iung.pulawy.pl
phone +48 81 4786778

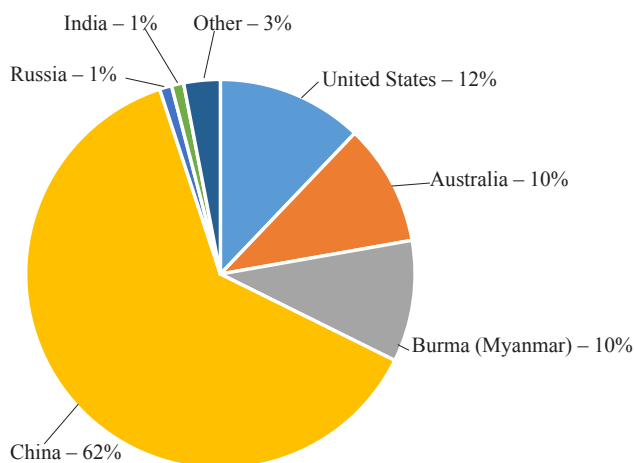


Figure 1. Distribution of REE production in 2019 (Garside, 2021).

Rare earth metals have special properties, making them desirable raw materials in many fields, including modern technologies, the so-called high-tech, industry, medicine and agriculture. First of all, they are used in renewable energy applications. They are used, among others, for the production of high-strength magnets applied in wind turbines, electronic equipment, electric vehicles and computers.

According to the European Commission, REE are considered critical materials due to the risks associated with their limited supply, as well as their importance for clean energy and advanced technologies. According to the latest research, neodymium (Nd), europium (Eu), dysprosium (Dy), terbium (Tb) and yttrium (Y) are the most critical of all REE due to their use in the production of magnets and lamp phosphors (Ji et al., 2020).

More than 200 minerals containing more than 0.01% of lanthanides are known. REE raw materials are usually obtained from such types of ores as: monazite (China, USA, Australia, India, Malaysia, Brazil, Thailand and Sri Lanka), bastnaesite (USA, China) and laterite ores. The above-mentioned raw materials are used to obtain REE mineral concentrates by means of flotation, magnetic and gravity enrichment. The selection of the appropriate method depends on the mineral-chemical composition, structure and texture of the raw material (Kwecko, 2016; Jarosiński, 2016).

The increased use of REE also leads to an increase in the amount of these elements in the environment. Exploration of REE causes their increased migration in the environment, which may disturb the balance of the ecosystem and negatively affect animals, plants and microorganisms. They are extracted to a large extent and this leads to increased volume of tailings or mining waste (Lima, Ottosen, 2021; Reisman et al., 2013). The increased risk of

the environment contamination with REE may result from the extraction, processing as well as improper disposal of materials containing the metals in question. Therefore, substantial amounts of REE are dispersed near industrial waste disposal sites, within urban areas, wastelands where coal or metallurgical waste (slags and flotation waste) are accumulated. A high concentration of rare earth metals is also found in industrial wastewater and sludge. These sites and materials are considered as alternative sources for REE acquisition. Waste electrical and electronic equipment, phosphogypsum or fly ash from hard coal combustion can be a potential source of REE recovery (Całus-Moszek, Białecka, 2012; Moshin et al., 2022). To date, little research has been done on the behavior of REE in the environment. Some studies show a toxic effect of La, which can replace calcium (Ca) in some cell cycles due to its similarity to Ca ions. In studies conducted by Fan et al. (2004) it was proved that children exposed to REE have a lower IQ level compared to people in the reference group. The research also proved the negative influence of some REE on the nervous, circulatory and immune systems (Fan et al., 2004). In turn, in the experiment conducted on grasshoppers, their consumption of biomass with a higher Ce content caused muscle paralysis within four days after ingestion (Allison et al., 2015; Chen et al., 2020). However, in general there is not much evidence of a negative effect of REE to organisms, especially in long-term studies.

The aim of the study is to discuss a nature-based method of REE recovery through phytoextraction that could potentially lead to clean up of the environment from the excess of REE. The review takes into account plant species that can accumulate the discussed elements, as well as factors that affect the phytoextraction process.

PHYTOEXTRACTION PRINCIPLES

The term phytoextraction refers to a technique that uses selected plant species to recover elements from the soil that are accumulated in the above-ground parts of plants. The purpose of the method is to reduce the level of elements in the soil as well as to acquire them from the environment in plant biomass as a secondary source of these elements (Xing, 2006).

The initial stage of phytoextraction covers selection of the site where the given metals occur in elevated concentrations. Such areas include naturally enriched or contaminated soils, such as mining or industrial areas. Next step is a selection of appropriate plant species and possible soil additives that would optimise the uptake of the elements from the substrate or the overall growth of the plant. Examples of such additives include phytohormones, fertilizers and exogenous organic matter. The final stage is harvesting the crop. Biomass can be reduced by composting or thermal treatments or used for the recovery of certain elements (Grobela et al., 2010; Krzciuk, 2019). From the physi-

ological point of view, the process of taking an element from the soil by a plant includes the following stages: solubilization of metal from the soil matrix, acidification of the rhizosphere and secretion of ligands, metal absorption by roots and transport to shoots, distribution between tissues and sequestration. REE in plants can be stored in various tissues, such as: mesophyll, epidermis or xylem, in places where the elements do not have a toxic effect on important cellular processes. In contrast, sequestration, the last step leading to accumulation, takes place in the vacuole, where the metal or its ligand complex is transported across the vacuolar membrane (Opore et al., 2021; Shan et al., 2003; El-Remady, 2010).

Two approaches are used in the phytoextraction process: the use of plants that have the natural ability to accumulate metals in greater amounts (hyperaccumulators) and those that accumulate REE in small amounts. The second approach uses application of chemicals called chelators as soil amendments. Hyperaccumulators are plants that are able to accumulate large amounts of metals in their organs without suffering a toxic effect of the element accumulation. Currently, threshold values in mg kg⁻¹ dry weight have been proposed for some elements as levels qualifying plants as hyperaccumulators: for Se, Cd, Tl are 100 mg kg⁻¹; for Cu, Co, Cr it is 300 mg kg⁻¹; for Zn it is 3000 mg kg⁻¹; for Mn 10000 mg kg⁻¹ (van der Ent et al., 2013). In general plants accumulate, among others, such metals as Fe, Mn, Zn, Cd, Cu, Mg and Mo (Bhargava et al., 2012). In order to qualify for this process, plant species should have an abundant root system, fast growth rate, tolerance to high levels of metal in the substrate, and the ability to accumulate high levels of metal in its aboveground parts (Garbisu, Alkorta, 2001; Xing, 2006). Hyperaccumulators are able to store 10-500 times higher levels of metals than crops. An example of a Zn and Cd hyperaccumulator is *Thlaspi caerulescens*, which is able to accumulate and tolerate 10,000 mg kg⁻¹ Zn and 100 mg kg⁻¹ Cd in the dry weight of shoots without showing any symptoms of toxicity (Escarre et al., 2011).

Two strategies for extracting metals by plants are used: continuous phytoextraction and induced, chemically assisted phytoextraction (Tahmasbian, Safari Sinegani, 2016). The first type of the process relies on the natural ability of certain plant species to accumulate and resist high concen-

trations of metals. On the other hand, the second approach uses chelating compounds responsible for the increased accumulation of metals (Krzciuk, 2015). Table 1 shows the differences between the two phytoextraction methods.

FACTORS INFLUENCING REE HYPERACCUMULATION

Currently, more than 400 plant species classified as natural metal hyperaccumulators have been identified, but the list of species is still being developed. Twenty two species have been identified as REE hyperaccumulators. The species recognized as REE hyperaccumulators represent five families: Phytolaccaceae (e.g. *Phytolacca americana*, *P. icosandra*), Gleicheniaceae (e.g. *Dicranopteris linearis*), Blechnaceae (e.g. *Blechnum niponicum*, *Woodwardia japonica*), Juglandaceae (e.g. *Carya cathayensis*, *C. glabra*, *C. tomentosa*), Thelypteridaceae (e.g. *Pronephrium simplex*, *P. triphyllum*) (Krzciuk, 2015; Jalali, Lebeau, 2021). For the total REE, an accumulation limit of 100 mg kg⁻¹ dry weight was established (van der Ent et al., 2021).

The following soil factors may affect hyperaccumulation: cation exchange capacity, organic matter content, pH, metal content in the substrate. Only limited part of the element pool in soil is bioavailable to plants. The rest is mostly in insoluble forms, making them inaccessible for adsorption by the plant roots. It has been proved that REE are more mobile in solutions rich in F⁻, Cl⁻, HCO₃⁻, CO₃²⁻, HPO₄²⁻, PO₄³⁻ ions. The isomorphic replacement of calcium with REE is due to their similar ion radius, making carbonates the preferred form of REE in soils. However, in order to increase the biomass of plants, it is important not only to maintain the optimal pH, but also properly fertilize, which supports growth of plants. Examples of such fertilizers are nitrogen and potassium fertilizers, which when added to the soil lower the pH, increasing the mobility of most trace elements. On the other hand, they contribute to plant growth, as they contain important biogenic elements. It has been proven that the addition of such substances increases the accumulation of elements (Lihong et al., 1999; Balar-am, 2019). Phosphorus fertilizers used in agriculture might contain REE at levels two orders of magnitude higher than in uncontaminated agricultural soils. Turra et al. (2019) conducted a greenhouse experiment on Rangpur lime (*Cit-*

Table 1. Differences in the application of two phytoextraction techniques (Nascimento, Xing, 2006).

Chemically assisted phytoextraction	Natural phytoextraction
Plants need the right conditions to accumulate metals	Plants naturally hyperaccumulate metals
Fast growth, high biomass	Slow growth, low biomass growth
Strengthening the uptake of metals by the addition of synthetic chelators or organic acids	Natural metal extraction capacity
Low level of metal tolerance – can be toxic to the plant	High level of tolerance, possibility of accumulation of high concentrations of metals without toxic effects on plants
Risk of release of metal chelates into the environment	No risk to the environment

rus limonia Osbeck) plants using superphosphate fertilizer. The concentration of REE in the substrate increased after the application of the fertilizer. In the examined citrus plants, a higher concentration of REE was recorded in the leaves than in the branches. The substrate-plant transfer rates for La, Ce, Sm and Sc ranged from 0.0002 to 0.0047. The highest substrate-leaf transfer rate was observed for La (0.0047) (Turra et al., 2019). In terms of binding with organic matter, REE behave in soils similarly to other trace elements. Organic matter is fundamental for the adsorption of REE as it provides negative charges in the solid phase of soils (Lihong et al., 1999; Balaram, 2019).

Soil pH has a significant impact on the growth and development of hyperaccumulating plants. It strongly influences the availability of nutrients and elements of interest to plants, as well as the toxicity of metals in the substrate. Typically, the concentration of metals in the solution is increased by lowering the pH value. A drop in pH causes a large amount of metal ions to be desorbed from the surface of colloids and clay particles, from where it gets into the soil solution. Hence, lowering the pH may disturb the balance of metal ions precipitation and positively affect their release into the soil solution. The optimal value of the availability of macronutrients for plants is in the range of pH 6 to 7 (Sheoran et al., 2016; Corzo Remigio et al., 2020).

Hyperaccumulating plants are classified using the BF (bioaccumulation factor) and the TF (translocation factor). The value of both factors for the plants in question should be greater than 1. The BF is the efficiency of accumulation and is defined as the ratio of an element concentration in the above-ground parts of the plant to its amount in the soil. The TF describes the efficiency of metal movement and it is the ratio between the concentration of metals in plant shoots to the concentration of metals in the roots (Szarek-Łukaszewska, 2014; Krzciuk, 2015).

There are two pathways of metal transport in hyper-accumulators: apoplastic and symplastic. The apoplastic transport process has been identified in most plant species. However, REE absorption encounters the first apoplastic barrier in the roots, which makes it difficult to transport the elements to xylem and then translocate to other plant organs. As a result, the content of elements in the organs is as follows: roots > stems > leaves > flowers > fruit (Ramos et al., 2016; Brioschi, 2013). For example, the accumulation of Zn, Cd and Ni occurs mainly in the cell walls located outside the plasma membrane of the epidermis, the endodermal cortex to the Casparian band, while not occurring in the stele (Shan et al., 2003).

CHELATE-ASSISTED PHYTOEXTRACTION

In order to make the phytoextraction process more efficient, certain compounds assisting the uptake of metals from the environment have been tested. The example is a group of compounds called chelators.

Organic and inorganic ligands play an important role in root absorption of various elements. These are synthetic APCA (aminopolycarboxylic acids): EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), ethylene-bis [oxyethylene trinitrilo] tetraacetic acid (EGTA), ethylene-diamino-N, N 0 bis (o-hydroxyphenyl) acetic acid (EDDHA), N-(2-hydroxyethyl) iminodiacetic acid (HEIDA), while natural APCAs are: ethylenediamine disuccinate (EDDS), nitrilotriacetic acid (NTA), natural low molecular weight organic acids (NLMWOA), humic substances (HS). Metals complexed with the ligands mentioned above are more accessible to plant roots (Salt et al., 1995; Jabeen et al., 2009). Table 2 shows examples of chelating compounds and their effect on the mobilization and plant uptake of trace elements.

Table 2. Chelating compounds and their influence on the mobilization and uptake of metals.

Chelator	Amount added [mmol kg ⁻¹]	Metal	Increase in metal absorption compared to control	Plant species	Side effects	Reference
NTA	2	Pb	23.8%	Fern (<i>Athyrium wardii</i>)	No side effects	Yu et al. (2020)
EDTA	5	Cu	12-times	Corn (<i>Zea mays</i>)	Plant growth down to 60% compared to the control	Luo et al. (2005)
EDDS	2.5	Co	5-times	Chinese milk vetch (<i>Astragalus sinicus</i> L.)	No side effects	Chen et al. (2019)
Citric acid	20	Ni	55%	<i>Odontarrhena muralis</i>	Visual symptoms of toxicity: chlorosis and necrosis on leaves	do Nascimento et al. (2020)
Citric acid	3	Pb	2-times	Indian mustard (<i>Brassica juncea</i>)	No evidence of toxicity	Wu et al. (2013)

In conclusion from the attached table, the addition of chelators can increase the absorption of metals by up to 12-times compared to the control, as in the case of *Zea mays* after adding EDTA to the soil.

Synthetic chelators are characterized by high toxicity and low biodegradability. The risk of using the chelators to optimize phytoextraction may be related to the potential of their release into the environment. The use of synthetic chelators should be limited to controlled conditions, e.g. small soil volumes or constructed systems, in order to avoid the release of chelators to groundwater (Moschner et al., 2020). For example, the use of EDTA in Pb phytoextraction raises concerns related to the long term retention of the chelator in the soil profile and its resistance to microbial decomposition (Hart et al., 2022).

FEASIBILITY OF REE PHYTOEXTRACTION

In low doses, REE can have a positive effect on the development of plants: they stimulate seed germination, the growth of roots, leaves or stems. However, the improvement of plant growth is limited only to certain stages or substrate conditions (Zhang et al., 2013; Thomas et al., 2014). It has been proved that a high concentration of REE in the substrate may negatively affect the growth of the plants. As a result, it may not be possible to recover satisfactory amount of REE along with the biomass. A substantial knowledge gap concerning feasibility of REE phytoextraction is related to the fact that most of the research on the effects of these elements on plants has been carried out under hydroponic conditions (Thomas et al., 2014).

As mentioned previously, REE are not essential for plants, but plants accumulate these elements from the soil or substrate through their roots or also through leaves from dust deposition, this is mainly the case in mining and urban areas. In case of accumulation by means of roots, the limitation is related to root system development. Metals beyond the root reach cannot be taken (Tyler, 2004; Khan et al., 2016).

Another limitation of the phytoextraction process is that the phytoextraction efficiency is closely related to the plant growth – the extraction rate is in general proportional to the plant biomass and the concentration of an element of interest. Therefore unassisted phytoextraction process is very slow (Bhargava et al., 2012). For phytoextraction to be considered economically viable, it is necessary that the bioconcentration factor of the metals provided by the plant species concerned is 20 and the biomass production is at least 10 tonnes per hectare (Peuke, Rennenberg, 2005; Bhargava et al., 2012). This makes the phytoextraction efficiency of REE using regular crops generally not economically justified. Therefore, one of the possible solutions is to use plants that occur naturally in areas contaminated with rare earth metals. These species are naturally resistant to high concentrations of potentially toxic elements without

suffering toxicity. Some of them also exhibit natural capacity for enhanced metal uptake. An example is the *Phytolacca americana*, which occurs naturally in the United States and can reach up to 3 meters in height (Grosjean et al., 2019). The use of native species in phytoextraction may also prevent the introduction of invasive plant species into the ecosystem (Zhou et al., 2015). Examples of species of plants naturally accumulating REE are presented in Table 3.

An effective solution is to support the phytoextraction process by adding soil amendments that increase REE solubility (e.g. chelators) or improving soil conditions to stimulate better plant growth. In the studies by Xueyuan et al. (2001), wheat seedlings were used for the purpose of REE absorption. The experiment involved the addition of humic acid (HA). It was shown that lower concentrations of HA $<0.2 \text{ g kg}^{-1}$ favored the accumulation of rare earth metals in the roots, but concentrations higher than 0.2 g kg^{-1} decreased the concentration of REE (Xueyuan et al., 2001).

Plants can secrete natural metal chelating molecules into the rhizosphere. Its goal is to mobilize soil-bound metals. The key root exudates are low molecular weight organic acids (LMWOA). These are oxalic, succinic, tartaric, formic, malic, acetic, butyric, lactic, fumaric, maleic, and citric acids (Sokolova, 2020). Due to their chelating or metal complexing properties, they can influence the solubility of elements in the soil and their uptake by plants. The highest association constant at pH approx. 7.5 for metal complex formation has the protein amino-acid histidine (Shan et al., 2003.). *Dicranopteris dichotoma*, a fern growing in acidic soils in southern China, hyperaccumulates several LREE such as La, Ce, Nd and Pr to around 0.7% of the dry leaf weight. In the experiment of Shan et al. (2003) the addition of malic acid, histidine and citric acid was used to stimulate REE uptake from the substrate. For example, adding histidine to the soil in which ferns grew for 60 days caused an increase in LREE in their leaves by 21–34%, while in the control leaves only by 6–10% (Shan et al., 2003). In the studies of Khan et al. (2016), attention was focused on plants belonging to the Cyperaceae, Gleicheniaceae and Melastomaceae families. Research has shown that *Dicranopteris linearis* and *Cyperus rotundus* L. can be included as REE hyperaccumulators. The highest concentrations of Ce ($1482.60 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$) and La ($1305.07 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$) were reported for *D. linearis*. *C. rotundus* L. accumulated $568.90 \text{ } \mu\text{g of La g}^{-1}$ (Khan et al., 2016).

Wu et al. (2013) reported that the absorption of La by tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) by the whole plant biomass, increased after the addition of aspartic acid, asparagine, histidine and glutamic acid, compared to the control. The concentration of La in tomato after its treatments with aspartic acid and asparagine increased to $449 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ (Wu et al., 2013).

Table 3. Natural REE hyperaccumulators.

Rare earth elements	Concentration in plants [mg kg ⁻¹]	Plant species	Location	Reference
LREE	732.97 (leaves) 581.30 (roots)	<i>Dicranopteris dichotoma</i>	mining area (Malaysia)	Khan et al. (2016)
HREE	27.71 (leaves) 77.70 (roots)			
	BF – 143.29			
LREE	240.65 (roots)	<i>Dicranopteris linearis</i>	mining area (Malaysia)	Khan et al. (2016)
HREE	9.97 (roots)			
	BF – 219.16			
LREE	515.08 (leaves) 475.78 (roots)	<i>Cyperus rotundus</i>	area by the river (Malaysia)	Khan et al. (2016)
HREE	78.33 (leaves) 137.82 (roots)			
	BF – 387.11			
REE	514 (leaves) BF 0.22 – 1.51	<i>Phytolacca americana</i>	mining area (China)	Liu et al. (2021)
LREE	1040 (leaves) BF – 0.37	<i>Phytolacca americana</i>	mining area (China)	Yuan et al. (2018)
REE	520.78 (shoots) 33.94 (roots) BF>100	<i>Atriplex leucoclada</i> Boiss.	mining area (Iran)	Tabasi et al. (2018)
REE	13 (leaves)	<i>Phytolacca icosandra</i>	-	Grosjeana et al. (2019)
La	144 (leaves)	<i>Carya tomentosa</i>	natural soil (United States)	Wood, Grauke (2011)
Ce	325 (leaves)			
La	108 (leaves)	<i>Carya cordiformis</i>	natural soil (United States)	Wood, Grauke (2011)
Ce	276 (leaves)			
REE	177 (roots)	<i>Cistus monspeliensis</i>	mining area (Portugal)	Durães et al. (2014)

BF – bioaccumulation factor

Table 4. Efficiency of REE phytoextraction supported by chelators.

Rare earth elements	Increase in REE accumulation compared to control	Species	Basis	Addition/chelator	Reference
REE	3.5 times	<i>Phytolacca americana</i>	mining area (China)	biochar (addition of fir sawdust)	Liu et al. (2020)
La	4-57%	<i>Triticum aestivum</i> L.	hydroponic system	acetic acid, malic acid	Wang et al. (2004)
La, Ce, Pr, Nd	21-78%	<i>Dicranopteris dichotoma</i>	REE ore deposit (China)	histidic acid, malic acid, citric acid	Shan et al. (2003)
La, Nd	20 times	<i>Phalaris arundinacea</i>	clayey silt (Germany)	citric acid	Wiche et al. (2017)
Gd, Er	10 times				
REE	46%	<i>Zea mays</i>	greenhouse experience	cow dung	Okoroafor et al. (2022)

Soil amendments may promote the recovery of REE from soil. The influence of pig manure and biochar with the addition of fir sawdust on phytoextraction of REE with *Phytolacca americana* was investigated by Liu et al. (2020). It was concluded that soil additives improved the physicochemical properties of the soil. However, a significant effect (the sums of REE harvested was 3.56 times higher compared to the control) was only achieved after the addition of low dose of biochar (1%). In the case of

higher concentrations, soil pH and the amount of organic carbon and nutrients increased, which in consequence reduced the bioavailability of REE in the medium (Liu et al., 2020). Table 4 shows efficiency of REE phytoextraction supported by chelators.

Another strategy used in phytoextraction might be based on interspecific interactions between plants. For example, in the studies by Wiche et al. (2016), REE uptake was tested using the interspecific interaction between bar-

ley (*Hordeum vulgare* L., cv. Modena) and white lupine (*Lupinus albus* L., cv. Foedora) under field conditions. It was shown that the concentrations of REE in the shoots of white lupine monocultures were about two times higher than in barley. Furthermore, a significant increase in La, Nd, Sm, Gd, Y was recorded in barley shoots in the variant consisting of intercropping with lupine. Such research proves that the proper selection of plants can contribute to the increased absorption of REE from the substrate. However, the appropriate ratio of the tested plants in the intercropping should be selected for the process to be efficient (Wiche et al., 2016).

CONCLUSIONS

REE can pose a threat to the natural ecosystem. Increased demand for technologies in which REE are increasingly used causes their release into the environment. Therefore, methods should be sought to enable the rehabilitation of contaminated areas. Phytoextraction is a method that uses plants that can accumulate elements without having toxic effects on their growth. In general two phytoextraction strategies are used. The first one involves plants naturally accumulating metals, i.e. hyperaccumulators, while the second one involves the addition of chelators to facilitate the absorption of elements from the substrate. The advantages of phytoextraction include the fact that it is in general safe for the environment, cost-effective and the produced biomass can be subjected to further stages of REE recovery. However, REE phytoextraction has some limitations: so far there are few plant species capable of accumulating REE, the concentrations of REE in plants are not satisfactorily high which does not make the process of REE extraction from the biomass economically viable. It is clear that more research is needed on optimisation of REE phytoextraction. This shall involve further selection of plants, nature based solutions enhancing accumulation of REE in plant shoots and using substrates containing rich-REE waste instead of soil for plant-based recovery of these elements.

REFERENCE

- Allison J. E., Boutin C., Carpenter D., Ellis D. M., Parsons J. L., 2015. Cerium chloride heptahydrate ($\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) induces muscle paralysis in the generalist herbivore, *Melanoplus sanguinipes* (Fabricius) (Orthoptera: Acrididae), fed contaminated plant tissues. *Chemosphere*, 120: 674-679, doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.09.058.
- Balaram V., 2019. Rare earth elements: a review of applications, occurrence, exploration, analysis, recycling, and environmental impact. *Geoscience Frontiers*, 10(4): 1285-1303, doi: 10.1016/j.gsf.2018.12.005.
- Bhargava A., Carmona F.F., Bhargava M., Srivastava S., 2012. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Journal of Environmental Management*, 105: 103-120, doi: 10.1016/j.jenvman.2012.04.002.
- Brioschi L., Steinmann M., Lucot E., Pierret M. C., Stille P., Prunier J., Badot P.M., 2013. Transfer of rare earth elements (REE) from natural soil to plant systems: implications for the environmental availability of anthropogenic REE. *Plant and Soil*, 201(366): 143-163, doi: 10.1007/s11104-012-1407-0.
- Burchard-Dziubińska M., 2014. Strategic role of rare-earth metals in the knowledge-based economy. *Gospodarka w Praktyce i Teorii*, 1(34): 21-33, doi: 11089/11867. [in Polish + summary in English]
- Calus-Moszek J., Bialecka B., 2012. The potential and resources of rare earth metals in the world and in Poland Review article. *Research Reports Mining and Environment*, 4: 61-72. [in Polish + summary in English]
- Castor S. B., Hedrick J. B., 2006. Rare earth elements. *Industrial minerals and rocks*, 7: 769-792, doi: 10.1002/9781119951438.eibd0664.
- Chen H., Chen Z., Chen Z., Ou X., Chen J., 2020. Calculation of toxicity coefficient of potential ecological risk assessment of rare earth elements. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104: 582-587, doi: 10.1007/s00128-020-02840-x.
- Chen L., Wang D., Zeng C., Long C., 2019. Improving cobalt phytoextraction by *Astragalus sinicus* L. grown in co-contaminated soils using biodegradable chelators, soil and sediment contamination. *An International Journal*, 28(5): 461-472, doi: 10.1080/15320383.2019.1613957.
- Corzo Remigio A., Chaney R.L., Baker A.J.M., 2020. Phytoextraction of high value elements and contaminants from mining and mineral wastes: opportunities and limitations. *Plant Soil*, 449: 11-37, doi: 10.1007/s11104-020-04487-3.
- do Nascimento C.W.A., Hesterberg D., Tappero R., Nicholas S., da Silva V.B.A., 2020. Citric acid-assisted accumulation of Ni and other metals by *Odontarrhena muralis*: implications for phytoextraction and metal foliar distribution assessed by μ -SXRF. *Environmental Pollution*, 260:114025, doi: 10.1016/j.envpol.2020.114025.
- Durães N., da Silva E.F., Bobos I., Ávila P., 2014. Rare earth elements fractionation in native vegetation from the Moncorvo Iron Mines, NE Portugal. *Procedia Earth and Planetary Science*, 10: 376-382, doi: 10.1016/j.proeps.2014.08.064.
- El-Remady H.R., 2010. Ecotoxicology of rare earth elements: Ecotoxicology of rare earth elements within soil and plant environments. VDM Publishing.
- Escarré J., Lefèvre C., Raboyeau S., Dossantos A., Gruber W., Marel J. C. C., Frérot H., Noret N., Mahieu S., Collin C., van Oort F., 2011. Heavy metal concentration survey in soils and plants of the Les Malines mining district (Southern France): implications for soil restoration. *Water, Air & Soil Pollution*, 216: 485-504, doi: 485-504. 10.1007/s11270-010-0547-1.
- Fan G., Yuan Z., Zheng H., Liu Z., 2004. Study on the effects of exposure to rare earth elements and health-responses in children aged 7-10 years. *Journal of Hygiene Research*, 33(1): 23-28.
- Garbisu C., Alkorta I., 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology*, 3: 229-236, doi: 10.1016/S0960-8524(00)00108-5.
- Garside M., 2021. Distribution of rare earth element production worldwide in 2019, by select country. <https://www.statista.com/statistics/604345/distribution-of-rare-earth-element-production-worldwide-by-country/> (accessed 03.2021).

- Grobelak A., Kacprzak M., Fijalkowski K., 2010.** Phytoremediation the underestimated potential of plants in cleaning up the environment. *Journal of Ecology and Health*, 14(6): 276-280.
- Grosjean N., Le Jean M., Berthelot C., Chalot M., Gross I. M., Blaudez D., 2019.** Accumulation and fractionation of rare earth elements are conserved traits in the *Phytolacca* genus. *Scientific Reports*, 9: 18458, doi: 10.1038/s41598-019-54238-3.
- Hart G., Koether M., McElroy T., Greipsson S., 2022.** Evaluation of chelating agents used in phytoextraction by switchgrass of lead contaminated soil. *Plants*, 11: 1012, doi: 10.3390/plants11081012.
- Jabeen R., Ahmad A., Iqbal M., 2009.** Phytoremediation of heavy metals: physiological and molecular mechanisms. *The botanical review*, 75: 339-364, doi: 10.1007/s12229-009-9036-x.
- Jalali J., Lebeau T., 2021.** The role of microorganisms in mobilization and phytoextraction of rare earth elements: a review. *Frontiers in Environmental Science*, 9: 688430, doi: 10.3389/fenvs.2021.688430.
- Jarosiński A., 2016.** The possibilities of the acquisition of rare-earth metals under national conditions. *Zeszyty Naukowe Instytutu Gospodarki Surowcami Mineralnymi i Energią Polskiej Akademii Nauk*, 92: 75-88. [in Polish + summary in English]
- Ji B., Li Q., Zhang W., 2020.** Leaching recovery of rare earth elements from calcination product of a coal coarse refuse using organic acids. *Journal of Rare Earths*, 40(20): 318-327.
- Khan A.M., Yusoff I., Abu Bakar N.K., Abu Bakar A.F., Alias Y., Mispan M., 2016.** Accumulation, uptake and bioavailability of rare earth elements (REE) in soil grown plants from ex-mining area in Perak, Malaysia. *Applied Ecology And Environmental Research*, 15(3): 117-133, doi: 10.15666/aer/1503_117133.
- Krzciuk K., 2015.** Hyperaccumulators-their characteristics, research and practical importance. *Kosmos*, 64(2): 293-304. [in Polish + summary in English]
- Krzciuk K., 2019.** Phytomining of rare earth elements (REE) as a method of sustainable management of nonrenewable resources. *Kosmos*, 68(3): 443-449, doi: 10.36921/kos.2019_2518. [in Polish + summary in English]
- Kwecko P., 2016.** Rare Earth Elements (REE) in surface environments of the lithosphere. *Geological Survey*, 64(11): 902-917. [in Polish + summary in English]
- Lihong Y., Xiaorong W., Hao S., Haishi Z., 1999.** The effect of EDTA on rare earth elements bioavailability in soil ecosystem. *Chemosphere*, 38(12): 2825-2833, doi: 10.1016/S0045-6535(98)00496-2.
- Lima A.T., Ottosen L., 2021.** Recovering rare earth elements from contaminated soils: Critical overview of current remediation technologies. *Chemosphere*, 265, 129163, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.129163.
- Liu C., Liu W., van der Ent A., Morel J.L., Zheng H., Wang G., Tang Y., Qiu R., 2021.** Simultaneous hyperaccumulation of rare earth elements, manganese and aluminum in *Phytolacca americana* in response to soil properties. *Chemosphere*, 282(1): 131096, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131096.
- Liu W.S., Chen Y.Y., Huot H., Liu C., Guo M., Qiu R., Morel J.L., Tang Y.T., 2020.** Phytoextraction of rare earth elements from ion-adsorption mine tailings by *Phytolacca americana*: Effects of organic material and biochar amendment. *Journal of Cleaner Production*, 275: 122959, doi: 10.1016/j.jclepro.2020.122959.
- Luo C., Shen Z., Li X., 2005.** Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere*, 59(1): 1-11, doi: 10.1016/j.chemosphere.2004.09.100.
- Moschner C., Feuerstein U., Heilmeier H., Zaffar N., Wiche O., 2020.** Effect of substrate properties on the mobility of selected trace elements in soil and concentrations in shoots of *Phalaris arundinacea*. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, 15(1): 49-56. doi: 10.26471/cjees/2020/015/108.
- Mohsin M., Salam M.M.A., Nawrot N., Kaipainen E., Lane D.J., Wojciechowska E., Kinnunen N., Heimonen M., Tervahauta A., Peräniemi S., Sippulace O., Pappinen A., Kuittinen S., 2022.** Phytoextraction and recovery of rare earth elements using willow (*Salix* spp.). *Science of the Total Environment*, 809, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.152209.
- Nascimento C.W.A., Xing B., 2006.** Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Science Agriculture*, 63(3): 299-311, doi: 10.1590/S0103-90162006000300014.
- Okoroafor P.U., Kunisch N., Epede M.N., Ogunkunle C.O., Heilmeier H., Wiche O., 2022.** Phytoextraction of rare earth elements, germanium and other trace elements as affected by fertilization and liming. *Environmental Technology & Innovation*, 28(2): 102607, doi: 10.1016/j.eti.2022.102607.
- Opere E.O., Struhs E., Mirkouei, A., 2021.** A comparative state-of-technology review and future directions for rare earth element separation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 143: 1364-0321, doi: 10.1016/j.rser.2021.110917.
- Peuke A.D., Rennenberg H., 2005.** Phytoremediation. *EMBO Reports*, 6(6): 497-501, doi: 10.1038/sj.embor.7400445.
- Ramos S.J., Dinali G.S., Oliveira C., 2016.** Rare earth elements in the soil environment. *Current Pollution Reports*, 2: 28-50, doi: 10.1007/s40726-016-0026-4.
- Reisman D.R., Weber J., Mckernan C., Norheim C., 2013.** Rare earth elements: a review of production, processing, recycling and associated environmental issues. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Salt D.E., Blaylock M., Kumar N.P., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet I., Raskin I., 1995.** Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology (NY)*, 13(5): 468-74, doi: 10.1038/nbt0595-468.
- Shan X., Wang H., Zhang S., Hanfa Z., Yan Z., Yu H., Bei W., 2003.** Accumulation and uptake of light rare earth elements in a hyperaccumulator *Dicranopteris dichotoma*. *Plant Science*, 165: 1343-1353, doi: 10.1016/S0168-9452(03)00361-3.
- Sheoran V., Sheoran A.S., Poonia P., 2016.** Factors affecting phytoextraction: a review. *Pedosphere*, 26(2): 148-166, doi: 10.1016/S1002-0160(15)60032-7.
- Sokolova T.A., 2020.** Low-molecular-weight organic acids in soils: sources, composition, concentrations, and functions: a review. *Eurasian Soil Science*, 53: 580-594, doi: 10.1134/S1064229320050154.
- Szarek-Łukaszewska G., 2014.** Heavy metals hyperaccumulating plants. *Kosmos*, 63(3): 443-453. [in Polish + summary in English]
- Tabasi S., Hassani H., Azadmehr A.R., 2018.** Field study on Re and heavy metal phytoextraction and phytomining potentials

- by native plant species growing at Sarcheshmeh copper mine tailings, SE Iran. *Journal of Mining & Environment*, 9(1): 183-194, doi: 10.22044/jme.2017.5969.1413.
- Tahmasbian I., Safari Sinangani A.A., 2016.** Improving the efficiency of phytoremediation using electrically charged plant and chelating agents. *Environmental Science and Pollution Research*, 23: 2479-2486, doi: 10.1007/s11356-015-5467-6.
- Thomas P. J., Carpenter D., Boutin C., Allison J.E., 2014.** Rare earth elements (REE): Effects on germination and growth of selected crop and native plant species. *Chemosphere*, 96: 57-66, doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.07.020.
- Turra C., De Nadai Fernandes E.A., Bacchi M.A., 2019.** Uptake of rare earth elements by citrus plants from phosphate fertilizers. *Plant Soil*, 437: 291-299, doi: 10.1007/s11104-019-03979-1.
- Tyler G., 2004.** Rare earth elements in soil and plant systems-a review. *Plant and Soil*, 267: 191-206. doi: 10.1007/s11104-005-4888-2.
- van der Ent A., Baker A.J.M., Reeves R.D., 2013.** Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant Soil*, 362: 319-334, doi: 10.1007/s11104-012-1287-3.
- van der Ent A., Joseph Pollard A., Echevarria G., Abubakari F., Erskine P.D., Baker A.J.M., Reeves R.D., 2021.** Exceptional uptake and accumulation of chemical elements in plants: Extending the hyperaccumulation paradigm. *Agromining: Farming for metals. Mineral Resource Reviews*, Springer, Berlin, pp. 99-131, doi: 10.1007/978-3-030-58904-2_6.
- Wang Z.J., Wang J.H., Liu L.Y., Huang W.J., Zhao C.J., Wang C.Z., 2004.** Prediction of grain protein content in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) using plant pigment ratio (PPR). *Field Crops Research*, 90: 311-321, doi: 10.1016/j.fcr.2004.04.004.
- Wiche O., Kummer N.A., Heilmeier H., 2016.** Interspecific root interactions between white lupin and barley enhance the uptake of rare earth elements (REE) and nutrients in shoots of barley. *Plant and Soil*, 402: 235-245, doi: 10.1007/s11104-016-2797-1.
- Wiche O., Tischler D., Fauser C., Lodemann J., Heilmeier H., 2017.** Effects of citric acid and the siderophore desferrioxamine B (DFO-B) on the mobility of germanium and rare earth elements in soil and uptake in *Phalaris arundinacea*. *International Journal of Phytoremediation*, 19(8): 746-754, doi: 10.1080/15226514.2017.1284752.
- Wood B.W., Grauke L.J., 2011.** The rare-earth metallome of pecan and other *Carya*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 136(6): 389-398, doi: 10.21273/JASHS.136.6.389.
- Wu J., Chen A., Peng S., Wei Z., Liu G., 2013.** Identification and application of amino acids as chelators in phytoremediation of rare earth elements lanthanum and yttrium. *Plant Soil*, 373: 329-338, doi: 10.1007/s11104-013-1811-0.
- Xing B., 2006.** Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Scientia Agricola*, 63, doi: 10.1590/S0103-90162006000300014.
- Xueyuan G., Wang X., Gu Z., Dai L., 2001.** Effects of humic acid on speciation and bioavailability to wheat of rare earth elements in soil. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 13(3): 83-88, doi: 10.3184/095422901782775426.
- Yu H., Zhan J., Zhang Q., Huang H., Zhang X., Wang Y., Li T., 2020.** NTA-enhanced Pb remediation efficiency by the phytostabilizer *Athyrium wardii* (Hook.) and associated Pb leaching risk. *Chemosphere*, 246: 125815, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.125815.
- Yuan M., Liu C., Liu W.S., Guo M.N., Morel J.L., Huot H., Yu H.J., Tang Y.T., Qiu R.L., 2018.** Accumulation and fractionation of rare earth elements (REE) in the naturally grown *Phytolacca americana* L. in southern China. *International Journal of Phytoremediation*, 20: 415-423, doi: 10.1080/15226514.2017.1365336.
- Zhang C., Li Q., Zhang M., Zhang N., Li M., 2013.** Effects of rare earth elements on growth and metabolism of medicinal plants. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 3: 20-24, doi: 10.1016/j.apsb.2012.12.005.
- Zhou L., Li Z., Liu W., Liu S., Zhang L., Zhong, L., Lu X., Liang H., 2015.** Restoration of rare earth mine areas: organic amendments and phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 22: 17151-17160, doi: 10.1007/s11356-015-4875-y.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was financed by the National Science Centre, Poland, the project 2019/35/B/ST10/03244

Author	ORCID
Grzegorz Siebielec	0000-0001-8089-6123
Dominika Gmur	0000-0003-4061-1474

received – 11 August 2022

revised – 07 September 2022

accepted – 30 September 2022

The authors declare no conflict of interest.



This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike (CC BY-SA) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Article

Differences in Accumulation of Rare Earth Elements by Plants Cultivated in Soil and Substrates from Industrial Waste Materials

Dominika Gmur , Grzegorz Siebielec  and Monika Pecio 

Department of Soil Science and Environmental Analyses, Institute of Soil Science and Plant Cultivation State Research Institute, Czartoryskich 8, 21-100 Pulawy, Poland; gs@iung.pulawy.pl (G.S.); mpecio@iung.pulawy.pl (M.P.)

* Correspondence: dgmur@iung.pulawy.pl

Abstract: The aim of this experiment was to investigate the differences in the uptake and accumulation of rare earth elements (REEs) between selected plant species and the substrates used (soil with increased REE content, ash, and smelter waste). Eight plant species were included in the study: common yarrow (*Achillea millefolium*), false mayweed (*Triplerosperum maritimum*), tall fescue (*Festuca arundinacea*), marigold (*Tagetes* sp.), maize (*Zea mays*), white mustard (*Sinapis alba*), red clover (*Trifolium pratense* L.), and autumn fern (*Dryopteris erythrosora*). The study focused on the following REE representatives: lanthanum (La), cerium (Ce), europium (Eu), and gadolinium (Gd). Plant samples, divided into roots and shoots, were analyzed by ICP-MS. The obtained REE concentrations in plant tissues ranged from 9 to 697 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (La), 10 to 1518 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Ce), 9 to 69 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Eu), and 9 to 189 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Gd). To determine the ability of plants to phytoextract REE, two factors were calculated: the translocation factor (TF) and the bioconcentration factor (BCF). The highest TF value was obtained for *D. erythrosora* growing on a substrate consisting of soil with increased REE content (Gd, TF = 4.03). Additionally, TF > 1 was obtained for all REEs in *T. pratense* L. In the experiment, the BCF was lower than 1 for all the plants tested. The study provided insight into the varying ability of plants to accumulate REEs, depending on both the plant species and the chemical properties of the substrate.

Keywords: rare earth elements; phytoextraction; contaminants; plant-based technology; soil remediation



Academic Editor: Vladimir V. Kuznetsov

Received: 9 January 2025

Revised: 10 February 2025

Accepted: 12 February 2025

Published: 14 February 2025

Citation: Gmur, D.; Siebielec, G.; Pecio, M. Differences in Accumulation of Rare Earth Elements by Plants Cultivated in Soil and Substrates from Industrial Waste Materials. *Plants* **2025**, *14*, 589. <https://doi.org/10.3390/plants14040589>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The inappropriate or uncontrolled management of waste connected with activities such as ore mining and smelting, the chemical industry, the transfer of sewage sludge to agricultural soils, and other waste-generating activities are the processes leading to soil pollution [1]. Mining and mineral processing are responsible for the creation of large amounts of waste materials. This is because only a small percentage of the ore is valuable, so 99% of it is in the form of tailings. Additionally, it is estimated that there are over a million abandoned mines in the world, left without remedial measures. As a result, such types of metal deposits can be used today as a source of secondary resources. Especially for critical metals, demand has been increasing over the years [1,2].

Rare earth elements (REEs) are a group of metals that occur naturally in the environment. They include 15 lanthanides: lanthanum (La), cerium (Ce), praseodymium (Pr), neodymium (Nd), promethium (Pr), samarium (Sm), europium (Eu), gadolinium (Gd), terbium (Tb), dysprosium (Dy), holmium (Ho), erbium (Er), thulium (Tm), ytterbium

(Yb), lutetium (Lu), yttrium (Y) and scandium (Sc). REEs can be extracted from monazite, bastnaesite, xenotime, and ion-adsorption clays [3].

REEs are commonly found in the Earth's crust [4]. REE content in soil depends on the minerals in which they are found, soil texture, organic material content, pedogenic processes, and anthropogenic activity. The average REE concentration in the Earth's crust is about 0.015%, which corresponds to approx. 189 mg kg^{-1} ; the closer to the Earth's surface, the lower the content [5].

Due to the properties of REEs, they play an increasingly important role in industry, especially in innovative technologies linked with the trend of reducing the use of fossil fuels. They are used, among others, for the production of wind turbines, hybrid cars, or batteries. REEs are also increasingly used in agriculture as fertilizers [6]. REEs are used in agriculture as growth regulators. They are used in the form of foliar application, fertilizer additives and seed dressings. It has been proven that the use of REEs in crops increased their productivity by 5–15% [7]. But, using REEs in high concentrations has a retarding effect on the growth of plants [8]. In the studies of [9], it was proved that adding fertilizer containing La and Ce to the soil increased the uptake of phosphorus by maize. In the same studies, it was also proved that adding fertilizer in a dose of less than 10 kg/ha containing REEs increased the yield of the tested plant [7]. In turn, after the foliar addition of fertilizer containing REEs to *Triticum aestivum*, an increase in the level of REE accumulation in roots and leaves was observed, whereas no significant presence of these metals was found in the grains [10].

Approximately 95% of all mineral resources containing REEs in the world are contained in three minerals: monazite, xenotime, and bastnasite. The REE content in soils depends on, among other things, the parent material of the soil, climate, weathering intensity or mobility and sequestration of REEs in secondary minerals, and soil organic matter [11]. The effect of the rapid growth in the exploration of mineral resources containing REEs and the increasingly widespread use in modern industry and everyday life is the increase of these metals in ecosystems. The main areas with increased REE content include zones located near polluted sites (large cities or mining and industrial areas), regions where agriculture is intensive, and places where the parent material shows a high REE content [12]. Plants growing in urban or agricultural soils bioaccumulate REE. As a result, excessive content of these metals in the substrate leads to serious consequences for the surrounding environment, including groundwater and agricultural products. The presence of REEs in soil and water can lead to the entry of these elements into the bodies of humans and animals, for example, through consumed food [13]. It has been shown that rare earth mining has affected residents living near mining areas. When analyzing urine for REE content, individuals in these areas showed higher levels of elements compared to those living outside the mining zones [14].

REEs have been classified by the European Union as a group of elements belonging to critical raw materials due to supply risk (CRM). The substitution index (range of 0–1), which is the parameter defining the difficulty of metal substitution, is for REEs assigned as higher than 0.9 [15]. The growing demand for REEs, especially in industry, has led to the release of these metals into the environment. The increasing content of these metals in the environment can have adverse effects on the ecosystem and threaten human health. As a result, it has become crucial to find ways to remediate areas contaminated with REEs and recover them from secondary resources around the world [16].

Traditional methods of remediation of heavy metal contamination are based on physical, chemical, and thermal methods. Physical methods include soil washing, thermal desorption, and replacement or partial replacement of contaminated soil with another soil to reduce the concentration of contaminants. Chemical methods include vitrification

technology, chemical leaching, chemical fixation, and the electrokinetic method. These methods are time-consuming and economically unprofitable; some are very complicated and have many limitations [17].

Gentle phytoremediation methods can be an alternative to traditional remediation methods. Phytoremediation can be used to treat various pollutants: heavy metals, xenobiotics, pesticides, organic compounds, and toxic aromatic compounds [18]. For this purpose, microorganisms, plants, or microbiological or plant enzymes are used [19]. Phytoremediation relies on natural processes and plants to remove, degrade, or immobilize pollutants [18]. The effectiveness of phytoremediation depends on many biological processes such as plant–microbe interaction, plant ability to take up contaminants from the substrate, translocation and tolerance mechanisms, and plant chelating ability. [20]. The key to remediation is to reduce the solubility of environmental contaminants by changing pH, redox processes, and adsorption of contaminants from contaminated soils. In summary, the mechanisms of phytoremediation in plant organisms include phytoextraction, phytodegradation, rhizofiltration, phytostabilization, and phytovolatilization. [18].

Plants involved in phytoextraction take up metals dissolved in the soil solution. Metals are absorbed by the roots and then transported to other parts of the plant, such as the stems or leaves [21]. The solubility of metals depends on factors such as soil pH, the concentration of other elements in the soil, and the content of organic matter. Soil pH significantly influences the availability of nutrients and the toxicity of metals to plants. For the phytoextraction process, the optimal soil pH is in the lower range of 6–7. Additionally, the uptake of metals by roots is also influenced by plant species and environmental conditions [2,17,21].

The translocation factor (TF) and bioconcentration factor (BCF) are used to describe the bioaccumulation properties of plants. The TF index describes the ratio of metal concentration in plant shoots to metal concentration in roots. Plants with higher TF values have a greater ability to transfer metals from roots to shoots. In turn, the BCF factor is the ratio of the concentration of an element in the plant to the concentration of the element in the soil. In the case of accumulators of a given group of metals, it is recommended that both TF and BAF be higher than 1, then, such plants are called hyperaccumulators. [6]. If the TF and BCF values for a plant are higher than 1, it is suggested that the plant can be used as a bioaccumulator, whereas if the $BCF > 1$ and $TF < 1$ are obtained, the plant can be used as a phytostabilizer. In contrast, the plant can be used as a phytoextractor when the $BCF < 1$ and $TF > 1$ [21].

The selection of optimal species for the soil remediation process or additives aimed at improving soil conditions is key to effective phytoremediation [22]. The selection of plant species for phytoremediation processes should take into account the ability of the plant to tolerate or biodegrade high concentrations of pollutants, accumulate elements of interest, grow quickly, produce large amounts of biomass, and be resistant to diseases, pests, and difficult environmental conditions [23].

For example, due to their rapid growth, *Typha latifolia*, *Salix* spp., *Dryopteris dichotoma*, and some fern species are among the most important plant species that can be used in REE phytoextraction. In the case of REEs, hyperaccumulators should accumulate more than $1000 \mu\text{g g}^{-1}$ of metals in their leaves or have a TF greater than 1. [24].

Based on a literature review, in general, there is missing information on comparing the ability of various physiologically different plant species to uptake and accumulate REEs. There might also be an interaction between the plant species potential and the type of soil or substrate used. Therefore, the aim of the study was to investigate the differences in REE uptake and accumulation between selected plant species and the substrates used (soil with increased REE content, ash, and smelter waste). The study focused on the following REE representatives: lanthanum (La), cerium (Ce), europium (Eu), and gadolinium (Gd). The

study basically was not aimed at optimizing the REE accumulation levels in plant tissues but rather to compare a wide range of plant species and substrate compositions to produce indications for further research that would be focused on enhancing the effectiveness of phytoextraction.

2. Results

2.1. Plant Growth

The average biomass for each of the eight plant species across the substrates used is presented in Figure 1. Significant differences were observed in plant growth, which strongly depended on the substrate used. For all plants except *S. alba*, the highest biomass was obtained for substrate 1 (soil). For *A. millefolium* it was 5.78 g pot⁻¹; for *T. pratense*, L. 6.98 g pot⁻¹; for *F. arundinacea*, 6.89 g pot⁻¹; for *Z. mays*, 17.15 g pot⁻¹; for *T. maritimum*, 6.23 g pot⁻¹; for *Tagetes* sp., 8.34 g pot⁻¹; and *D. erythrosora*, 2.51 g pot⁻¹. For *S. alba*, the highest biomass was observed for substrate 2 and it was 4.47 g pot⁻¹. The lowest plant biomass was recorded for substrate 3, where the biomass ranged from 0.69 g pot⁻¹ (*D. erythrosora*) to 12.51 g pot⁻¹ (*Z. mays*).

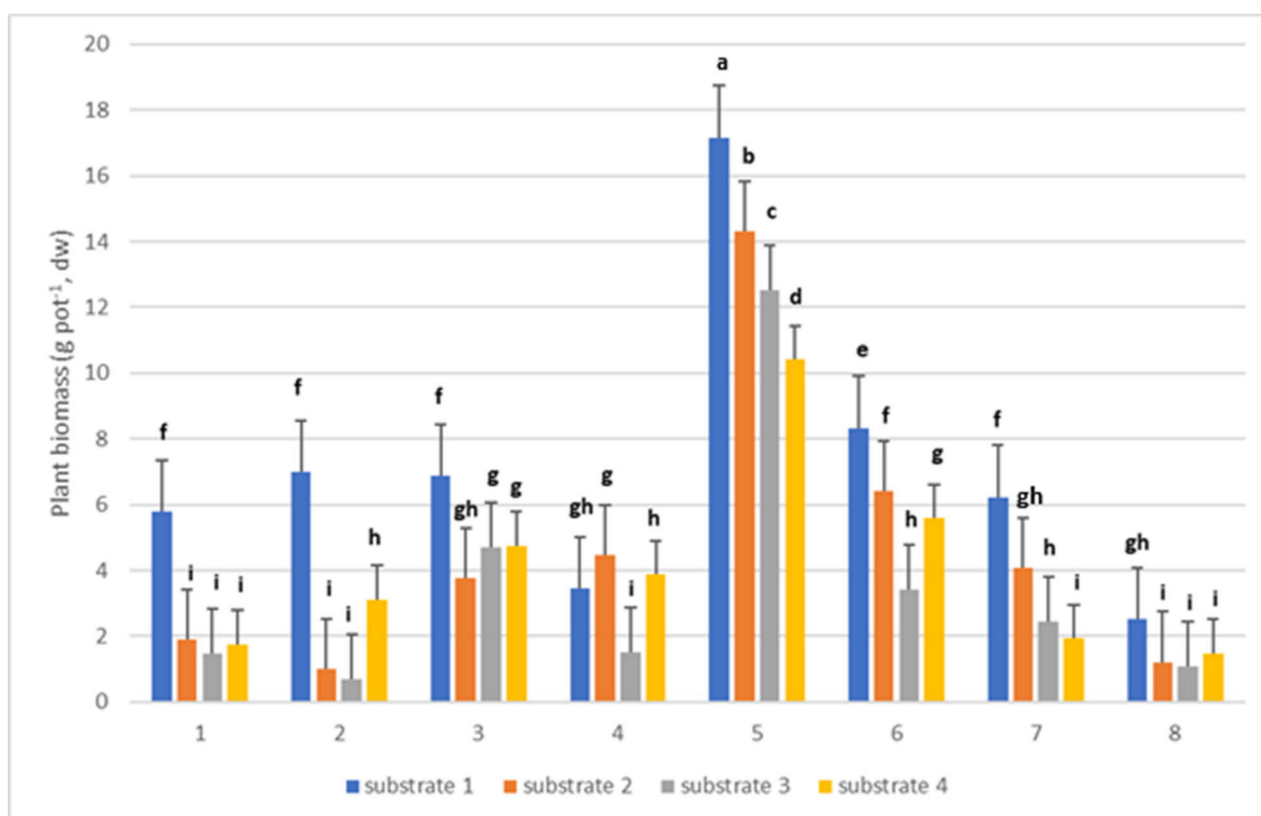


Figure 1. The total biomass production (g pot⁻¹, dw, mean ± SD, $n = 3$) of 1—*Achillea millefolium*, 2—*Trifolium pratense* L., 3—*Festuca arundinacea*, 4—*Sinapis alba*, 5—*Zea mays*, 6—*Tagetes* sp., 7—*Tripleurospermum maritimum*, 8—*Dryopteris erythrosora* across four substrates: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% paper industry ash, 20% compost, 50% peat), substrate 3 (30% power plant ash, 20% compost, 50% peat), substrate 4 (40% smelter waste, 20% compost, 40% peat). Values marked with different letters (a, b, c, etc.) for each element in relation to plant species and substrate variants are significantly different at $p < 0.05$ according to Tukey's HSD test (ANOVA).

2.2. Tolerance Index

Table 1 contains data on the calculated tolerance index (TI). The index was calculated as the ratio of the biomass increase in contaminated substrates (i.e., substrates 2, 3, and

4) to the biomass increase in the uncontaminated substrate (substrate 1). The highest TI values were obtained for *S. alba* in substrate 2 (TI = 1.30) and substrate 4 (TI = 1.12). TI values for the remaining plants were below 1. *T. pratense* L. appears to be the least tolerant to contaminants in the substrate, with the lowest TI values of 0.15 (substrate 2) and 0.10 (substrate 3). Additionally, TI values were higher in substrates 2 and 4 compared to substrate 3, with ranges of 0.15–1.30 and 0.30–1.12, respectively.

Table 1. Tolerance index (TI) for eight plant species: *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* L., *Festuca arundinacea*, *Sinapis alba*, *Zea mays*, *Tagetes* sp., *Tripleurospermum maritimum*, and *Dryopteris erythrosora*. The substrates that were used are as follows: substrate 2 (30% paper industry ash, 20% compost, 50% peat), substrate 3 (30% power plant ash, 20% compost, 50% peat), and substrate 4 (40% smelter waste, 20% compost, 40% peat). The highest TI values are marked in bold.

Species of Plants	Substrate 2	Substrate 3	Substrate 4
<i>A. millefolium</i>	0.33	0.25	0.30
<i>T. pratense</i> L.	0.15	0.10	0.45
<i>F. arundinacea</i>	0.55	0.68	0.69
<i>S. alba</i>	1.30	0.44	1.12
<i>Z. mays</i>	0.83	0.73	0.61
<i>Tagetes</i> sp.	0.77	0.41	0.67
<i>T. maritimum</i>	0.65	0.39	0.31
<i>D. erythrosora</i>	0.48	0.43	0.59

2.3. Change of Substrate pH

Table 2 shows the data for pH measured in H₂O for the four substrates after plant harvest. The first row presents the initial pH before the establishment of the experiment with plants; the remaining rows contain the results for the individual plant species and substrates.

Table 2. pH values of the four substrates used in the experiment (pH in H₂O, mean $\pm$ SD, $n = 3$). The substrates used were as follows: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% paper industry ash, 20% compost, 50% peat), substrate 3 (30% power plant ash, 20% compost, 50% peat), and substrate 4 (40% smelter waste, 20% compost, 40% peat). Values marked with different letters (a, b, c, etc.) for each element in relation to plant species and substrate variants are significantly different at $p < 0.05$ according to Tukey's HSD test (ANOVA).

Species	Substrate 1	Substrate 2	Substrate 3	Substrate 4
Initial pH	6.60	7.50	7.80	7.10
<i>Achillea millefolium</i>	5.15 $\pm$ 0.031 k	7.31 $\pm$ 0.057 d	7.55 $\pm$ 0.059 c	7.18 $\pm$ 0.021 f
<i>Trifolium pratense</i> L.	5.28 $\pm$ 0.065 j	7.55 $\pm$ 0.069 c	7.67 $\pm$ 0.035 b	7.17 $\pm$ 0.032 f
<i>Festuca arundinacea</i>	5.33 $\pm$ 0.038 ij	7.54 $\pm$ 0.026 c	7.69 $\pm$ 0.095 b	7.23 $\pm$ 0.047 e
<i>Sinapis alba</i>	5.88 $\pm$ 0.131 g	7.49 $\pm$ 0.036	7.75 $\pm$ 0.006 a	7.15 $\pm$ 0.114 f
<i>Zea mays</i>	5.53 $\pm$ 0.159 I	7.52 $\pm$ 0.026 cd	7.76 $\pm$ 0.017 a	7.16 $\pm$ 0.021 f
<i>Tagetes</i> sp.	5.40 $\pm$ 0.057 i	7.55 $\pm$ 0.032 c	7.70 $\pm$ 0.095 b	7.18 $\pm$ 0.025 f
<i>Tripleurospermum maritimum</i>	5.67 $\pm$ 0.055 h	7.58 $\pm$ 0.006 c	7.78 $\pm$ 0.020 a	7.15 $\pm$ 0.025 f
<i>Dryopteris erythrosora</i>	5.83 $\pm$ 0.186 g	7.57 $\pm$ 0.115 c	7.89 $\pm$ 0.044 a	7.26 $\pm$ 0.046 e

In substrate 1, the pH values ranged from 5.15 to 5.88; for each plant, the pH was lower compared to the initial state. The pH for substrate 2 ranged from 7.31 to 7.58, for

substrate 3 it was 7.55–7.89, and for substrate 4, 7.15–7.26. In the case of the last substrate, the pH was higher than the initial value for each plant. In general, soil pH (substrate 1) decreased during the experiment and plant growth, while the pH of substrates based on industrial wastes was more stable.

Elements are more available to plants when the soil has a lower pH, which affects the bioavailability and mobility of elements in the soil as well as the growth and development of plants. The study confirmed this assumption. In substrate 1, with a lower pH compared to the other substrates, higher yields of the tested plants were obtained. Additionally, plants took up greater amounts of La, Ce, Eu, and Gd compared to other substrates.

2.4. Accumulation of REEs in Plant Tissues

The total concentrations of La, Ce, Eu, and Gd in the aboveground parts and roots are presented in Table 2. The results indicate that REEs were accumulated in greater amounts in the roots of plants. The range of La in the aboveground parts was within the range of 9 to 311 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for *T. martimum* (substrate 1) and *D. erythrosora* (substrate 1), respectively, while in the root for this element, it was from 9 to 697 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for *T. pratense* L. in substrate 1 and substrate 2. The lowest Ce concentration was 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for *F. arundinacea* (substrate 2), and the highest was 497 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for *D. erythrosora* (substrate 1). In the roots, the range was 29–1518 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for *T. pratense* L. in substrates 1 and 2, respectively (Figure 3).

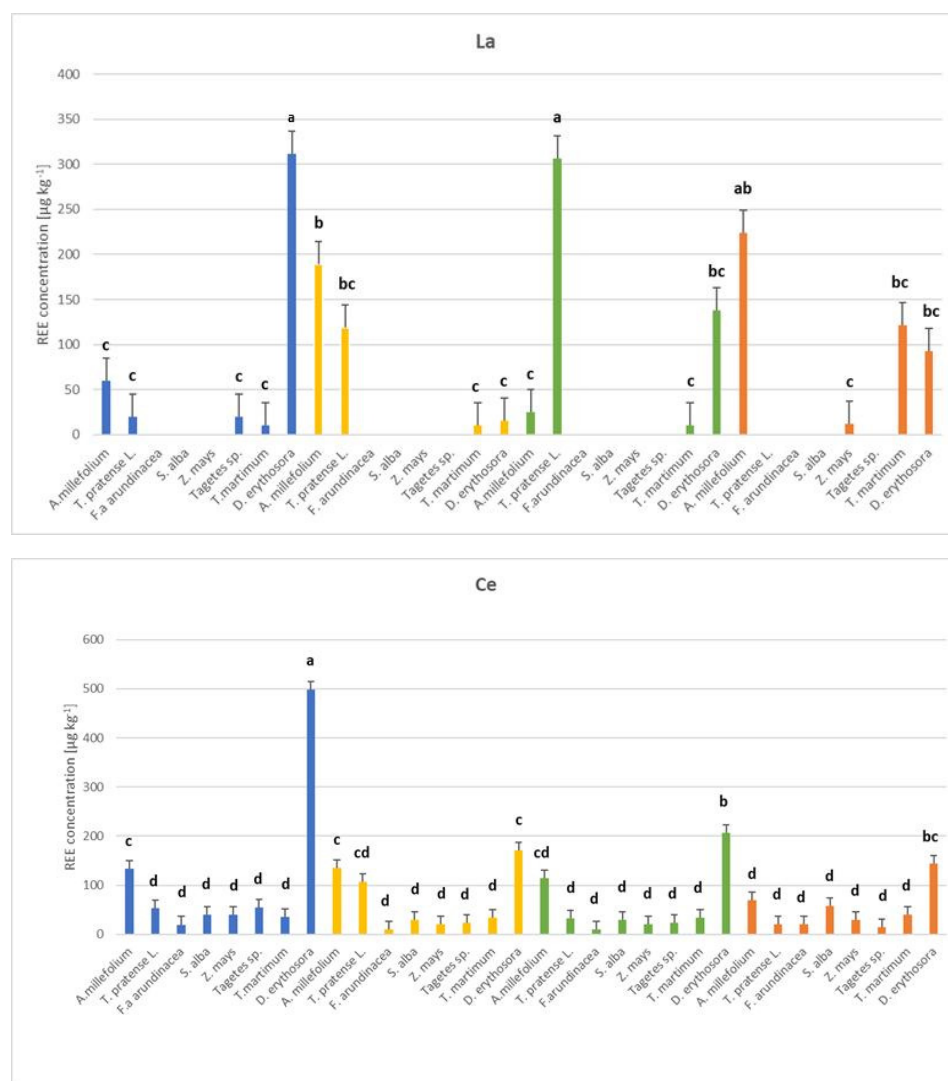


Figure 2. Cont.

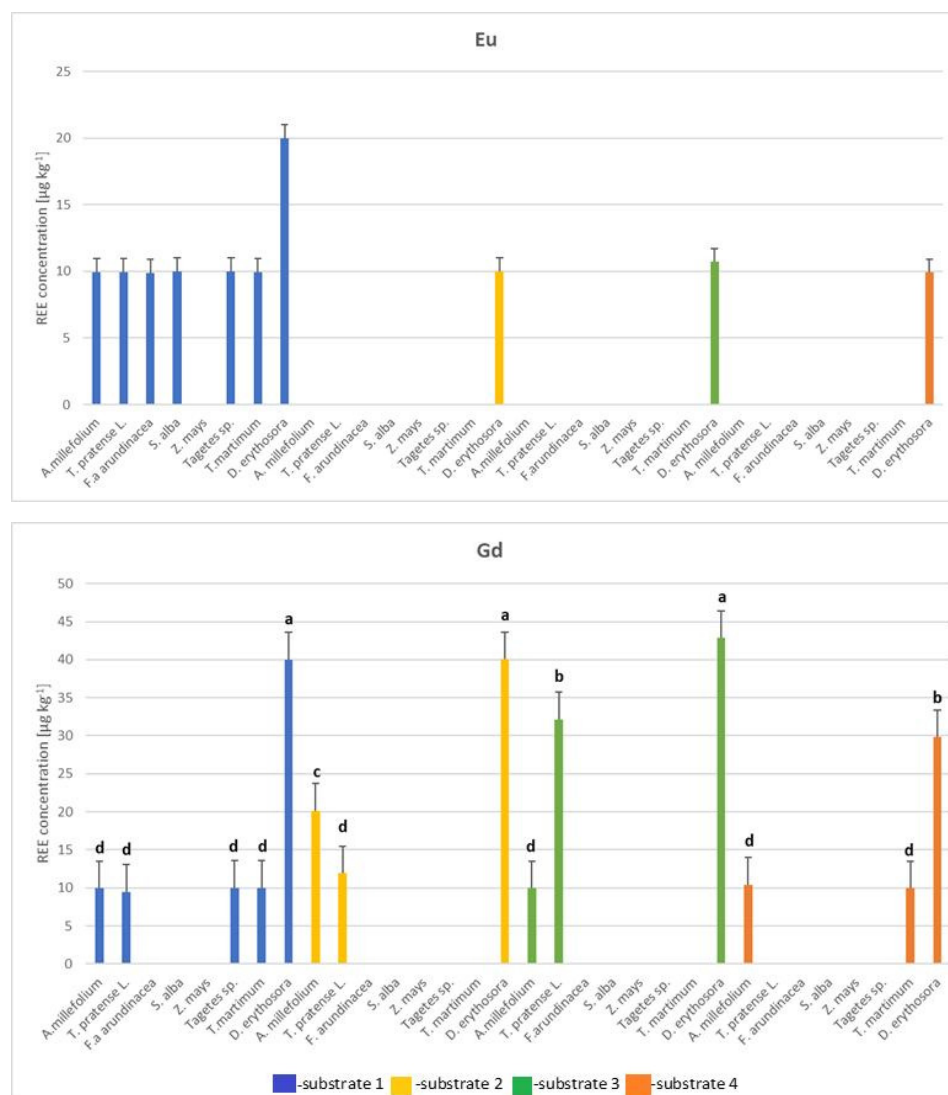


Figure 2. Concentrations of La, Ce, Eu, and Gd in shoots of *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* L., *Festuca arundinacea*, *Sinapis alba*, *Zea mays*, *Tagetes* sp., *Tripleurospermum maritimum*, *Dryopteris erythrosora* across four substrates ($\mu\text{g kg}^{-1}$, mean $\pm$ SD, $n = 3$). The substrates that were used are as follows: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% paper industry ash, 20% compost, 50% peat), substrate 3 (30% power plant ash, 20% compost, 50% peat), and substrate 4 (40% smelter waste, 20% compost, 40% peat). Values marked with different letters (a, b, c, etc.) for each element in relation to plant species and substrate variants are significantly different at $p < 0.05$ according to Tukey's HSD test (ANOVA). No letters indicate no statistical significance at the level of $p > 0.05$. Blank fields indicate results below the detection limit

The Eu range for the aboveground parts was 9 to 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$, where the lowest concentrations were detected for *A. millefolium* (substrate 1), *T. pratense* L. (substrate 1), *F. arundinacea* (substrate 1), *T. maritimum* (substrate 1), and *D. erythrosora* (substrate 4), and the highest for *D. erythrosora* (substrate 1). For the root, the Eu content ranged from 9 to 69 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for *T. pratense* L. (substrate 1) and *D. erythrosora* (substrate 4). Gd contents for aerial parts ranged from 9 to 42 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for *T. pratense* L. (substrate 1) and *D. erythrosora* (substrate 3), respectively. In turn, Gd content in the root ranged from 9 to 189 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for *T. pratense* L. in substrate 1 and substrate 4, respectively (Figure 3).

Two-way analysis of variance revealed a significant ($p < 0.05$) effect of plant species and substrate types on all analyzed elements in individual plant parts. In the case of substrate 1, the lowest REE content was maintained for *T. pratense* L. in the aboveground parts and root

(Gd—9 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dw). The highest content was obtained for *D. erythrosora* (root, Ce—512 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dw) and *T. martimum* (root, Ce—518 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dw). On the other hand, for substrate 2, the lowest content—9 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dw was obtained in the root for Eu and Gd for *T. martimum*, and Gd for *D. erythrosora*, while the highest was for *T. pratense* L. (root, Ce—1518 $\mu\text{g kg}^{-1}$). In substrate 3, the lowest REE values were obtained for *A. millefolium* (aboveground parts, Gd—9 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dw) and *T. martimum* (root, Eu and Gd—9 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dw). The highest content was obtained for *D. erythrosora* (root, Ce—1012 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dw). In substrate 4, the REE content ranged from 9 to 1436 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dw for *D. erythrosora* (aboveground parts, Gd) and *T. pratense* L. (root, Ce), respectively.

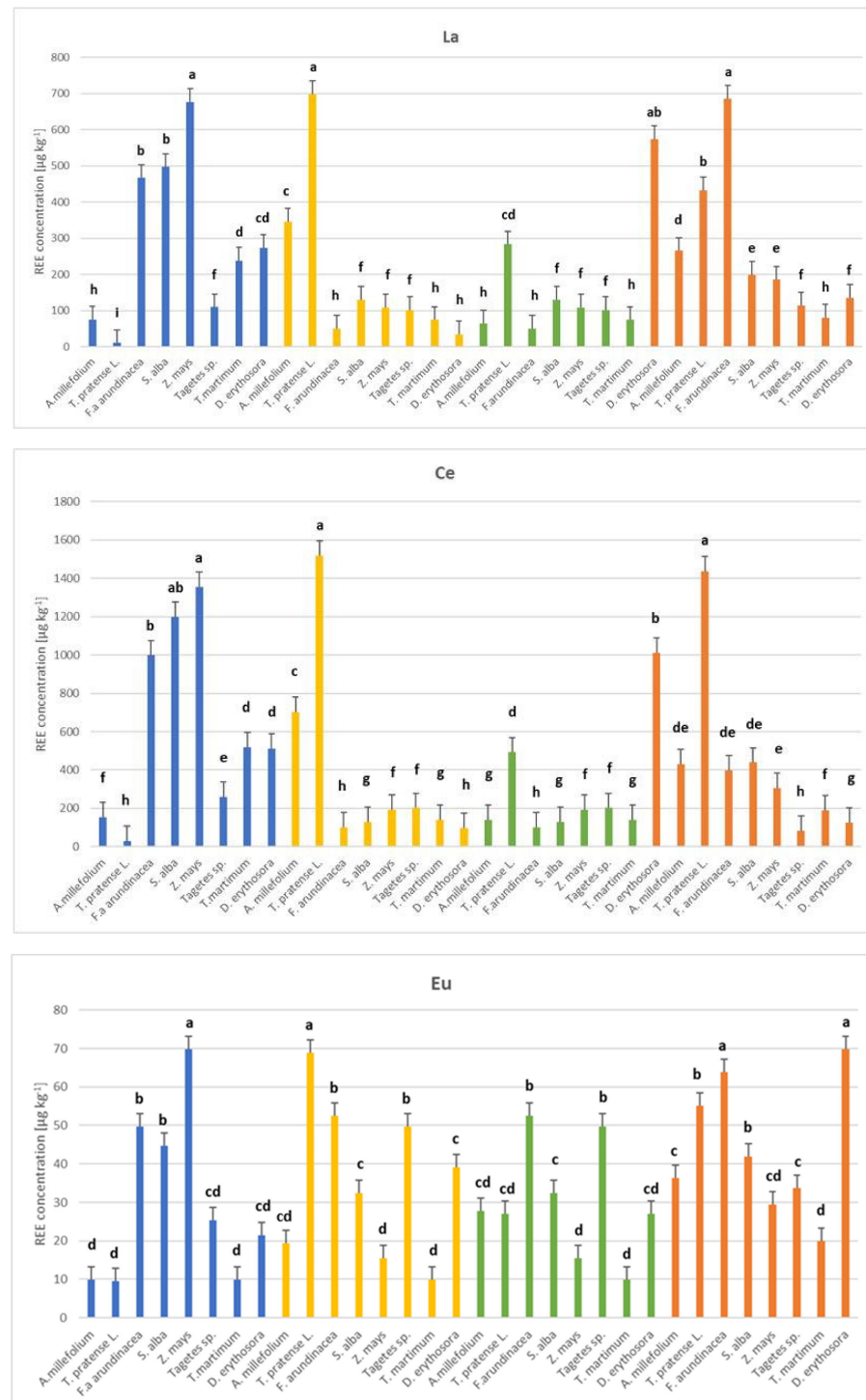


Figure 3. Cont.

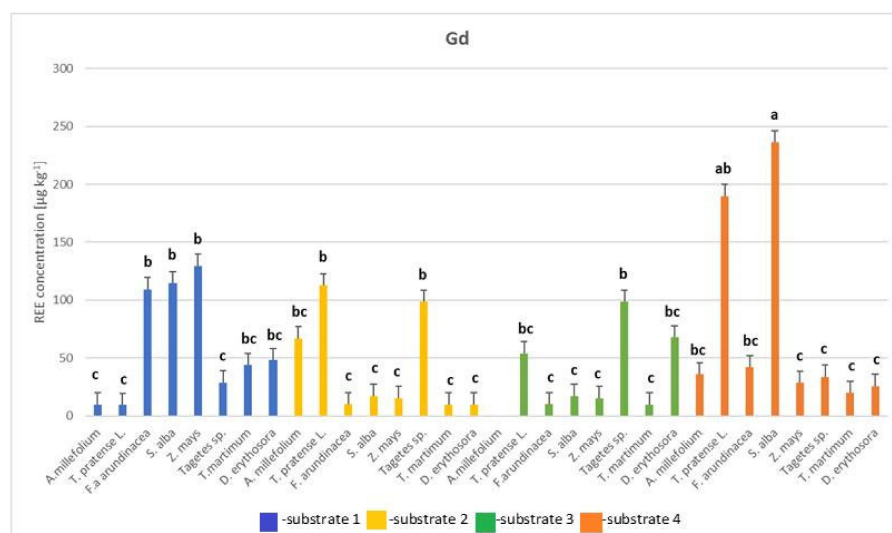


Figure 3. Concentrations of La, Ce, Eu, and Gd in roots of *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* L., *Festuca arundinacea*, *Sinapis alba*, *Zea mays*, *Tagetes* sp., *Tripleurospermum maritimum*, and *Dryopteris erythrosora* across four substrates ($\mu\text{g kg}^{-1}$, mean $\pm$ SD, $n = 3$). The substrates that were used are as follows: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% paper industry ash, 20% compost, 50% peat), substrate 3 (30% power plant ash, 20% compost, 50% peat), and substrate 4 (40% smelter waste, 20% compost, 40% peat). Values marked with different letters (a, b, c, etc.) for each element in relation to plant species and substrate variants are significantly different at $p < 0.05$ according to Tukey's HSD test (ANOVA). Blank fields indicate results below the detection limit.

2.5. Bioconcentration Factor and Translocation Factor

Table 3 presents the bioaccumulation indexes for plant species across the substrates tested. The BCF was lower than 1 in each case. This means that the plants used in the experiment cannot be classified as REE phytoextractors.

Table 3. Bioconcentration factor (BCF) for La, Ce, Eu, and Gd for eight species: *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* L., *Festuca arundinacea*, *Sinapis alba*, *Zea mays*, *Tagetes* sp., *Tripleurospermum maritimum*, and *Dryopteris erythrosora* across four substrates. The substrates that were used are as follows: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% paper industry ash, 20% compost, 50% peat), substrate 3 (30% power plant ash, 20% compost, 50% peat), and substrate 4 (40% smelter waste, 20% compost, 40% peat). The highest BCF values are marked in bold.

Type of Substrate	Species	La	Ce	Eu	Gd
substrate 1	<i>Achillea millefolium</i>	0.02	0.02	0.13	0.02
substrate 1	<i>Trifolium pratense</i> L.	0.004	0.006	0.13	0.01
substrate 1	<i>Festuca arundinacea</i>	0.07	0.07	0.40	0.11
substrate 1	<i>Sinapis alba</i>	0.08	0.09	0.37	0.11
substrate 1	<i>Zea mays</i>	0.11	0.10	0.47	0.13
substrate 1	<i>Tagetes</i> sp.	0.02	0.02	0.23	0.03
substrate 1	<i>Tripleurospermum maritimum</i>	0.04	0.04	0.13	0.05
substrate 1	<i>Dryopteris erythrosora</i>	0.09	0.07	0.28	0.08
substrate 2	<i>Achillea millefolium</i>	0.06	0.04	0.03	0.04
substrate 2	<i>Trifolium pratense</i> L.	0.09	0.08	0.12	0.06
substrate 2	<i>Festuca arundinacea</i>	0.005	0.005	0.09	0.005
substrate 2	<i>Sinapis alba</i>	0.01	0.008	0.05	0.008
substrate 2	<i>Zea mays</i>	0.01	0.01	0.02	0.008
substrate 2	<i>Tagetes</i> sp.	0.01	0.01	0.09	0.05

Table 3. Cont.

Type of Substrate	Species	La	Ce	Eu	Gd
substrate 2	<i>Triplerosperum martimum</i>	0.009	0.009	0.01	0.005
substrate 2	<i>Dryopteris erythosora</i>	0.005	0.01	0.09	0.02
substrate 3	<i>Achillea millefolium</i>	0.001	0.002	0.01	0.0007
substrate 3	<i>Trifolium pratense</i> L.	0.008	0.004	0.01	0.006
substrate 3	<i>Festuca arundinacea</i>	0.006	0.006	0.03	0.006
substrate 3	<i>Sinapsis alba</i>	0.003	0.003	0.008	0.003
substrate 3	<i>Zea mays</i>	0.005	0.006	0.06	0.006
substrate 3	<i>Tagetes</i> sp.	0.005	0.006	0.03	0.006
substrate 3	<i>Triplerosperum martimum</i>	0.008	0.007	0.008	0.007
substrate 3	<i>Dryopteris erythosora</i>	0.01	0.01	0.01	0.008
substrate 4	<i>Achillea millefolium</i>	0.06	0.03	0.12	0.02
substrate 4	<i>Trifolium pratense</i> L.	0.06	0.08	0.18	0.12
substrate 4	<i>Festuca arundinacea</i>	0.09	0.02	0.21	0.02
substrate 4	<i>Sinapsis alba</i>	0.02	0.02	0.14	0.15
substrate 4	<i>Zea mays</i>	0.02	0.02	0.09	0.01
substrate 4	<i>Tagetes</i> sp.	0.01	0.005	0.11	0.02
substrate 4	<i>Triplerosperum martimum</i>	0.02	0.01	0.06	0.01
substrate 4	<i>Dryopteris erythosora</i>	0.03	0.01	0.27	0.03

The lowest index for La, Ce, and Gd was characteristic of *A. millefolium* (substrate 3) BCF= 0.001; 0.002 and 0.0007, respectively. The lowest index for Eu was obtained for *S. alba* (substrate 3)—0.0088. On the other hand, the highest BCF values were calculated for *Z. mays* in substrate 1 (La BCF = 0.10; Ce BCF = 0.10; Eu BCF = 0.47) and *S. alba* in substrate 4 (Gd BCF = 0.15).

Table 4 presents the translocation factor of all tested plant species on four substrate variants. The TF > 1 for all tested REEs was obtained only for *T. pratense* L. in substrate 1 (La TF = 2.00, Ce TF = 1.78, Eu TF = 1.05, Gd TF = 1.00). The highest TF for La was obtained for *T. pratense* L. in substrate 1 (TF = 2.00), while for Ce, it was TF = 1.80 for *D. erythrosora* (substrate 2). *T. pratense* L. (substrate 1) was characterized by the highest TF for Eu (TF = 1.05). The highest TF for Gd was obtained for *D. erythrosora* in substrate 2 (TF = 4.03), and it was the highest translocation factor obtained in the experiment.

Table 4. Translocation factor for La, Ce, Eu, and Gd for eight species: *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* L., *Festuca arundinacea*, *Sinapsis alba*, *Zea mays*, *Tagetes* sp., *Tripleurospermum maritimum*, and *Dryopteris erythrosora* across four substrates. The substrates that were used are as follows: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% paper industry ash, 20% compost, 50% peat), substrate 3 (30% power plant ash, 20% compost, 50% peat), and substrate 4 (40% smelter waste, 20% compost, 40% peat). TF > 1 is marked in bold. There are b.d. presented in the table in case the concentration for a given plant was below the detection limit.

Type of Substrate	Species	La	Ce	Eu	Gd
substrate 1	<i>Achillea millefolium</i>	0.80	0.87	1.00	1.00
substrate 1	<i>Trifolium pratense</i> L.	2.00	1.78	1.05	1.00
substrate 1	<i>Festuca arundinacea</i>	b.d.	0.01	0.19	b.d.
substrate 1	<i>Sinapsis alba</i>	b.d.	0.03	0.22	b.d.
substrate 1	<i>Zea mays</i>	b.d.	0.02	b.d.	b.d.
substrate 1	<i>Tagetes</i> sp.	0.18	0.21	0.39	0.34

Table 4. Cont.

Type of Substrate	Species	La	Ce	Eu	Gd
substrate 1	<i>Triplerosperum martimum</i>	0.04	0.06	1.00	0.22
substrate 1	<i>Dryopteris erythosora</i>	1.17	0.97	0.93	0.83
substrate 2	<i>Achillea millefolium</i>	0.54	0.20	b.d.	0.30
substrate 2	<i>Trifolium pratense</i> L.	0.17	0.07	b.d.	0.10
substrate 2	<i>Festuca arundinacea</i>	b.d.	0.10	b.d.	b.d.
substrate 2	<i>Sinapsis alba</i>	b.d.	0.24	b.d.	b.d.
substrate 2	<i>Zea mays</i>	b.d.	0.10	b.d.	b.d.
substrate 2	<i>Tagetes</i> sp.	b.d.	0.22	b.d.	b.d.
substrate 2	<i>Triplerosperum martimum</i>	0.13	0.24	b.d.	b.d.
substrate 2	<i>Dryopteris erythosora</i>	0.47	1.80	0.25	4.03
substrate 3	<i>Achillea millefolium</i>	0.40	0.83	b.d.	b.d.
substrate 3	<i>Trifolium pratense</i> L.	1.13	0.06	b.d.	0.58
substrate 3	<i>Festuca arundinacea</i>	b.d.	0.04	b.d.	b.d.
substrate 3	<i>Sinapsis alba</i>	b.d.	0.03	b.d.	b.d.
substrate 3	<i>Zea mays</i>	b.d.	0.02	b.d.	b.d.
substrate 3	<i>Tagetes</i> sp.	b.d.	0.01	b.d.	b.d.
substrate 3	<i>Triplerosperum martimum</i>	0.05	0.01	b.d.	b.d.
substrate 3	<i>Dryopteris erythosora</i>	0.24	0.20	0.39	0.63
substrate 4	<i>Achillea millefolium</i>	0.85	0.16	b.d.	0.29
substrate 4	<i>Trifolium pratense</i> L.	b.d.	0.01	b.d.	b.d.
substrate 4	<i>Festuca arundinacea</i>	b.d.	0.05	b.d.	b.d.
substrate 4	<i>Sinapsis alba</i>	b.d.	0.12	b.d.	b.d.
substrate 4	<i>Zea mays</i>	0.06	0.09	b.d.	b.d.
substrate 4	<i>Tagetes</i> sp.	b.d.	0.19	b.d.	b.d.
substrate 4	<i>Triplerosperum martimum</i>	1.56	0.21	b.d.	0.49
substrate 4	<i>Dryopteris erythosora</i>	0.69	1.16	0.24	1.17

3. Discussion

Plant biomass is one of the factors determining the suitability of a given plant species for phytoremediation. In our experiment, the highest biomass was obtained for corn regardless the substrate used. However, the greatest growth of corn was observed on substrate 1. Apparently soil provided better growth conditions than the other substrates with a substantial share of industrial waste. Corn is considered a model plant due to its high biomass increase or significant tolerance to environmental stresses [25]. Comparing the biomass of all plants used in the experiment in relation to individual substrates, it can be seen that the highest biomass was produced on substrate 1 and the lowest on substrate 3, which was based on the power plant ash. In addition, the plants were characterized by a low tolerance index (TI). The values for most plants were low, which may indicate that the plants are less tolerant to the contaminants present in the contaminated substrates. In the experiment [26], the TI was studied for five plant species growing in soil contaminated with nickel (Ni). The TI range in this experiment varied from 3.04 to 219.78 [26].

Soil pH is one of the key factors determining the solubility and bioavailability of metals in the phytoextraction process. If the pH value drops below 6.0, the solubility and bioavailability of metals increase [27]. According to the literature, pH affects many biogeochemical processes in the soil, which in turn influence plant growth, biomass development, and the availability or mobility of metals. When the substrate has a lower pH, elements

tend to be more soluble due to high desorption and low adsorption. However, as pH increases, the tendency for adsorption of elements rises, starting from limited adsorption by soil components to almost complete adsorption within a narrow pH range, known as the pH adsorption edge. Studies have shown that, with increasing soil pH, the solubility of most elements decreases [27,28]. The most efficient substrate in the entire experiment was substrate 1, which had the optimal pH for plant growth in the tested plant species. Adding ash to the substrates limited plant growth and reduced the level of rare earth element uptake by plants (substrate 2 and substrate 3). Factors limiting plant growth, development, and the accumulation of elements from the substrate in such an environment include the unfavorable mechanical composition of ash, high pH, lack of essential nutrients (e.g., N and P), and potentially toxic concentrations of elements such as As, B, Cd, Cu, Hg, Mn, Mo, or Pb [29].

Metalloids such as zinc (Zn), copper (Cu), cadmium (Cd), lead (Pb), and arsenic (As) can adversely affect plant growth and development. Cu and Zn are essential micronutrients for plants, playing key roles in many physiological and metabolic processes. However, at high concentrations, they can cause chlorosis or inhibit growth. Additionally, Cu can interfere with nutrient absorption [30–33]. On the other hand, Cd, Pb, and As are toxic heavy metals that are not required for plant growth. Among other effects, they inhibit plant growth, cause chlorosis, impair root development, limit biomass production, disturb metabolic processes, and affect cell division, leading to the deformation of plant tissues [34–37].

High concentrations of these elements may result in weaker plant growth in substrates 2, 3, and 4, as well as a reduced ability of these plants to accumulate rare earth elements (REE) compared to plants growing in substrate 1. Substrate 4, for example, was characterized by higher concentrations of toxic metals than substrate 1 (soil). For instance, the content of As and Pb in substrate 4 was 2724 mg kg^{-1} and $21,783 \text{ mg kg}^{-1}$, respectively. In comparison, the content of As and Pb in soil collected from a former industrial area (substrate 1) was 2.02 mg kg^{-1} and 9.37 mg kg^{-1} , respectively. Flotation tailings, like ash, were characterized by higher concentrations of toxic metals and a more alkaline pH compared to soil. As a result, plants growing in substrate 4 exhibited a lower degree of REE accumulation.

Low REE concentrations in soil typically stimulate plant growth, while high concentrations have a negative effect on plant development and metal phytoextraction. However, there is limited data on the effects of different REE concentrations, which makes it difficult to clearly compare REE phytoextraction across different plant species [38]. For example, it has been shown that La can induce hormesis in *Oryza sativa* L., *Glycine max* L., and *Vicia faba* L. [8]. The range of REEs measured in plants was $19.6\text{--}2267 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ dry matter. The addition of ash or flotation tailings did not increase the level of REE accumulation in plants. Similarly, the author of [39] conducted studies with the addition of coal fly ash (CFA) to alfalfa (*Medicago sativa* L.) and astragalus (*Astragalus adsurgens* Pall.). It was found that adding CFA to the soil did not always significantly increase REE accumulation in plants compared to those growing in soil alone.

In the study by [40], the accumulation of selected REEs in *Dryopteris erythrosora* grown in soil was examined. It was shown that the fern accumulated La 11.79 mg kg^{-1} d.m., 39.41 mg kg^{-1} d.m., and Gd 1.05 mg kg^{-1} d.m. These values were higher than the REE content measured in the present experiment. In another study, the authors of [41] found that *Phytolacca americana* L., naturally growing in an REE extraction region (REE mine with ion absorption), accumulated up to 1040 mg kg^{-1} of these metals in its leaves. The perennial plant showed a preferential accumulation of heavy REEs in the root absorption process and a preferential accumulation of light REEs in the translocation process from the stem to the leaf [42].

Dicranopteris linearis is another example of a natural REE hyperaccumulator. Studies conducted in southern China showed that *D. linearis* could accumulate more than 1000 mg kg⁻¹ of REEs from both enriched and unenriched substrates. The study also calculated the BCF, which ranged from 1.11 to 14.8, and the TF, which ranged from 1.31 to 19.6 [43].

REE concentrations in common plants in natural conditions are usually low and usually 10⁻³–10⁻¹ µg g⁻¹ dw. In mining areas, however, the level of REEs in plant organs is higher due to the higher content of metals in these areas [44]. In our experiment, REE accumulation was higher in roots than in other plant organs. The distribution of metals between the main organs of vascular plants is generally diverse. Usually, the metal content is distributed as follows: roots > shoots > leaves [45]. It has been proven that REE can be accumulated by roots due to similar ionic radii, which they share with calcium. In this case, REEs can replace Ca molecules in several physiological processes, responsible for, among others, plant growth and development [46].

The translocation factor (TF) is a parameter that defines the efficiency of a plant in transferring metals from the roots to the shoots. To assess the plant's ability to take up elements, the bioconcentration factor (BCF) is calculated based on the ratio between the concentrations of elements in the plant tissues (roots, shoots) and the substrate in which the plant grows. If the ratio of metal content in the root to other plant organs and the ratio of metal content in the plant to the substrate, are greater than 1, the plant can be classified as potentially useful for phytoextraction. In practice, it is possible to collect and remove the aboveground parts of the plant, where metals accumulate, from the site [47].

In the experiment, the highest TF factor was calculated for *Dryopteris erythrosora* in substrate 2 (based on ash from the paper industry) for Gd. This plant showed higher TF values compared to the other plants. *D. erythrosora* is a type of fern. Rare earth elements are typically found in soil as ionic compounds, often bound to minerals or organic matter [48]. Fern roots release organic acids (such as citric acid and malic acid) into the soil, which can help dissolve these REE compounds, making them more available for absorption. Additionally, ferns are more resistant to lanthanide toxicity than other plant groups [49]. Studies [50] have shown that La has a beneficial effect on the growth of *D. erythrosora* and is stored in mesophyll cells. It has also been shown that in the sporophyte, REEs are translocated from the roots to the leaves via xylem sap and are stored in the xylem vascular system [39].

In the case of *T. pratense* L., the TF factor was higher than 1 for all the rare earth elements tested. This suggests that clover is characterized by relatively efficient transport of rare earth elements from the roots to the shoots. Similarly, in studies [51] on the use of *T. pratense* L. for phytoremediation of heavy metals in urban areas, the translocation coefficient (TF) was also higher than 1 for Cr (7.428 and 1.956) and Ni (4.038 and 1.997).

However, in the experiment, the TF > 1 was obtained only for particular plants. In most cases, it was lower than 1. In order to assess the ability of the plant to take up elements, calculations are made of the ratio between the concentrations of elements in the plant body (parts) and the substrate on which it grows [21]. In this experiment, the plants did not show the ability to distribute metals between organs. In each case, REEs were retained at the root level or were not acquired by plants to a larger extent.

Studies [52] showed that REE concentrations in parts of *Tagetes erecta* L. ranged from 0.75 to 20.26 mg kg⁻¹. It was also found that Ce was the most abundant REE in the samples, constituting 39 to 45% of the total REE concentration. Additionally, the BCF index for REEs was calculated and found to be lower than 1. This supports the results obtained for *Tagetes* sp. in this experiment, where the BCF was also lower than 1.

In another study [53], an attempt was made to identify native plant species growing in mining areas (lead, silver, and zinc mining) that could potentially be used in phytoremediation techniques. It was shown that the BCF for La and Ce in the roots was higher than the BCF for the shoots in the four species studied: *S. oppositifolia*, *S. tenacissima*, *P. milaceum*, and *A. herba-alba*. The BCF range for La was 0.3–9.9, and for Ce, it was 0.1–4.3. However, a $TF > 1$ was obtained only for *P. milaceum* for La.

Low values of both the transfer factor (TF) and bioconcentration factor (BCF) in the experiment may have been caused by the properties of the substrates. Adding ash or metallurgical waste to the substrates, despite higher REE content compared to the substrate with soil, did not affect the accumulation of metals by the plants. The low values of the coefficients obtained were likely influenced by several factors, including the alkaline pH of the substrate, the potential toxicity of other metals, competition from nutrients and other metals, and the inactivation of REEs by iron or aluminum compounds. Additionally, rare earth metals are not essential elements for plants. The uptake and accumulation of REEs depend on the plant species and morphology. For instance, some plants secrete low molecular weight organic acids in the soil–root system, which act as chelating agents, increasing the desorption of light REEs and facilitating the uptake of metals from the soil by the plants [54].

4. Materials and Methods

4.1. Experimental Design

Four substrate variants were used in the experiment. The first variant was represented by soil from Srebrna Góra in Lower Silesian Voivodeship in Poland (50°34′32″ N, 16°39′35″ E). Ashes from the paper industry in Ostrołęka and power plant ash from Upper Silesia were used for producing the second and third variants, respectively. The fourth variant was developed using zinc smelter flotation waste. The substrates were enriched with acidic peat and compost to lower the pH level and enrich with organic matter. The compost was collected from the GWDA company, Piła, Poland. It contained 30.2% organic matter and had a pH of 6.2. It was produced based on a mixture of sewage sludge and selectively collected green municipal, food industry, and agricultural waste. The compost is certified as a soil improver.

The experiment was conducted in 1 kg pots in the greenhouse of the Institute of Soil Science and Plant Cultivation—State Research Institute in Puławy (Poland). The final composition of the substrates in the pots is presented in Table 5.

Table 5. Composition of the substrates used for the greenhouse experiment (weight percentage).

	Soil	Ash	Smelter Waste	Compost (GWDA)	Peat
Substrate 1	95%	-	-	5%	-
Substrate 2	-	30%	-	20%	50%
Substrate 3	-	30%	-	20%	50%
Substrate 4	-	-	40%	20%	40%

Eight plant species were used as experimental plants, selected based on available literature: common yarrow (*Achillea millefolium*), false mayweed (*Tripleroospermum maritimum*), tall fescue (*Festuca arundinacea*), marigold (*Tagetes* sp.), maize (*Zea mays*), white mustard (*Sinapis alba*), red clover (*Trifolium pratense* L.), and autumn fern (*Dryopteris erythrosora*). *A. millefolium* and *T. maritimum* are common herbaceous plants occurring in temperate climates, and are resistant to unfavorable climatic conditions. In the studies [55], it was proven that *A. millefolium* is able to accumulate higher zinc (Zn) and cadmium (Cd) content, while the authors of [56] proved the ability of yarrow to phytostabilize in Cu-contaminated

soils located in the mining region. On the other hand, naturally growing in the mining area, *T. martimum* showed phytoextraction properties for mercury (Hg). *F. arundinacea* is a perennial grass widely distributed on all continents with a temperate climate, quite commonly used in phytoremediation. It is a plant species widely studied in terms of the accumulation of pollutants from soil [57]. *F. arundinacea* has been shown to accumulate higher concentrations of lead (Pb), zinc (Zn), nickel (Ni), cadmium (Cd), and petroleum hydrocarbons [58–60]. *Z. mays*, *S. alba* and *T. pratense* L. are crop plants with high biomass growth. These plants are often used in research as model plants. *T. pratense* L. has demonstrated phytoextraction capabilities for high concentrations of arsenic (As), as well as lead (Pb) and antimony (Sb) [61,62]. In turn, *Z. mays* shows, among others, phytoremediation potential for Cu, Cd, Cr, Ni, and phytostabilization potential for Co [63–66]. In turn, *D. erythrosora* is a fern from Japan. In the literature, it is presented as a natural REE hyperaccumulator [50,67]. *Tagetes* sp. was selected due to its use in urban areas, and there are also reports in the literature documenting its phytoremediation properties. In studies by the authors of [68,69], *Tagetes* sp. was shown to be an effective phytoextractor for Cd and Zn and an exclusion factor for Pb.

Each substrate and plant variant was represented by three replications in the study. The experiment was conducted in a greenhouse for 3 months starting in May. The plants were watered with distilled water according to current needs.

4.2. Analysis of Substrate Components

Samples of each component of the four substrates were dried in an oven, ground, and sieved through a 2 mm sieve. The pH in the water slurry was determined in a ratio of 1:5 (sample-water ratio). Total N and total C were determined on a Vario Macro Cube CN analyzer from Elementar Analysensysteme GmbH (Langenselbold, Germany) (according to the methods: DIN/ISO 13878:1998 [70] for total N and ISO 10694:1995 [71] for total C). Soil and waste samples weighing 0.5 g were digested in aqua regia (HCl-HNO₃ in a ratio of 3:1) in PFA Teflon vessels in a microwave-accelerated reaction system (MarsXpress; CEM Corp., Matthews, NC, USA). The obtained samples were analyzed using ICP-MS (Agilent 7500ce, Santa Clara, CA, USA). The characteristics of the substrates used in the substrates are given in Table 6.

Table 6. Content of elements (mg kg^{−1}) and other chemical properties of raw substrates: 1—soil, 2—ash from the paper industry, 3—power plant ash, 4—smelter waste. High content of elements is marked in bold.

Element	Soil	Paper Industry Ash	Power Plant Ash	Smelter Waste
Li	2.4	19.2	11.3	3.2
Be	0.1	2.1	0.8	1.5
Al	3674	59,437	15,669	10,064
V	10.5	174.1	35.5	54.7
Cr	7.6	104.7	46.6	41.9
Mn	143	447	631	6228
Fe	4689	54,200	14,031	23,6248
Co	1.6	30.5	15	14.7
Ni	4.3	85.1	53.4	70.3
Cu	3.1	48.4	498.03	16.2
Zn	14.3	113.7	892.72	126,228
As	2.0	22.8	9.3	2724.46

Table 6. *Cont.*

Element	Soil	Paper Industry Ash	Power Plant Ash	Smelter Waste
Se	0.1	23.1	1.1	12.2
Sr	0.5	30.9	36.1	3.1
Mo	0.1	2.9	3.7	13.7
Ag	0.1	0.2	4.7	39.8
Cd	0.1	5.2	11.2	573.6
Sn	0.1	2.0	22.6	0.5
Sb	0.0	0.4	16.4	7.2
Ba	19.3	317.9	797.7	50.5
La	6.2	67	8.9	7.0
Ce	13.1	120.4	18.6	16.6
Eu	0.1	2.27	0.5	0.2
Gd	0.9	12.45	1.9	1.5
Tl	0.05	0.64	0.4	19.4
Pb	9.3	40.7	117.4	21,782.9
Bi	b.d.	0.7	6.3	0.1
Na	21.1	285	8770	62.8
Mg	651	4235	10,300	16,277
K	1209	733	18,455	1721
Ca	987	151,265	130,492	37,220
pH in H ₂ O	6.60	7.93	11.26	8.55
EC μS/cm	146	1238	11,080	200
Total nitrogen % N	0.07	0.05	0.02	0.12
Total carbon % C	0.75	3.79	1.78	20.60

b.d.—below detection.

4.3. Plant and Substrate Analysis

After three months, the aboveground parts were cut and the roots were gently separated from the substrate. The plant parts were washed with tap water and then distilled water and dried in a dryer for about 2 days at 50 °C. The dried plants were ground for laboratory analysis.

Plant samples, separately aerial parts and roots (0.5 g), were digested in concentrated HNO₃ in Teflon PFA vessels in a microwave-accelerated reaction system (MarsXpress; CEM Corp., Matthews, NC, USA). The prepared liquid samples were then analyzed using ICP-MS (Agilent 7500ce, Santa Clara, CA, USA). As a certified reference material, soybean flour (INCT-SBF-4) and mixed Polish herbs (INCT-MPH-2) were used.

The substrates from the experiment were sampled after plant harvest, air-dried in a dryer, ground, and sieved through a 2 mm sieve. Then, the substrates were subjected to pH analysis in a water slurry (1:5 sample–water ratio).

4.4. Statistical Analysis

The results were analyzed using factorial analysis of variance (ANOVA). Tukey's test (HSD) was used to analyze differences between the content of elements.

The tolerance index (TI) is often calculated using the following formula [26]:

$$TI = (\text{Growth of plant in contaminated soil}) / (\text{Growth of plant in uncontaminated soil}) \quad (1)$$

Two indices were calculated to assess the accumulation of REEs in plant tissues. The bioconcentration factor (BCF) is a calculated value that indicates the ability of plants to remove metal compounds from the soil or substrate:

$$BCF = C_{\text{plant organs}} / C_{\text{soil/substrate}} \quad (2)$$

where,

$C_{\text{plant organs}}$ is the concentration of metal in collected plant tissues, and

$C_{\text{soil/substrate}}$ is the concentration of metal in soil or substrate [21].

In this experiment, the metal content used for BCF calculations was the initial value. Additionally, REE concentrations were calculated proportionally (Table 5) from the metal contents obtained from the substrate component analysis.

The second calculated factor was the translocation factor (TF):

$$TF = C_{\text{shoot}} / C_{\text{root}} \quad (3)$$

where,

C_{shoot} is the concentration of metals in shoots, and

C_{root} is the concentration of metals in roots.

These factors determine the ability of plants to tolerate and accumulate metals [21].

5. Conclusions

This experiment demonstrated that the tested plants generally accumulate REEs in low amounts, with a significant portion retained at the root level. As a result, the recovery of REEs from the aboveground biomass was low. Additionally, based on the calculated BCF and TF coefficients, the plants cannot be classified as REE phytoextractors. However, there were significant differences between individual plant species in terms of biomass production, REE concentrations, and accumulation or translocation patterns. For example, clover showed a greater ability to translocate REEs from the roots to the shoots compared to other plant species. In general, based on data such as biomass growth, metal accumulation, and the calculated coefficients, it can be suggested that the most efficient plants for REE accumulation were *Trifolium pratense* L. and *Dryopteris erythrosora*. The study also showed that, among the different plant species, the most optimal substrate was soil collected from a former industrial site enriched with REEs. From a practical standpoint, further research should focus on optimizing REE uptake by plants by adding chelators to the substrates under controlled greenhouse conditions.

Author Contributions: Conceptualization, D.G. and G.S.; methodology, D.G. and G.S.; validation, D.G. and M.P.; formal analysis, D.G.; investigation, D.G., G.S. and M.P.; resources, G.S.; data curation, D.G.; writing—original draft preparation, D.G.; writing—review and editing, G.S. and D.G.; visualization, D.G.; supervision, G.S. and D.G.; project administration, D.G. and G.S.; funding acquisition, G.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the National Science Center OPUS, project number 2019/35/B/ST10/03244. “Study of the environmental effects of the occurrence of rare earth elements, antimony and vanadium in soils and waste”.

Data Availability Statement: Dataset available on request from the authors. The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors on request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

BAF	Bioaccumulation factor
CRM	Critical raw material
REE	Rare earth elements
TF	Translocation factor
TI	Tolerance index

References

- Corzo Remigio, A.; Chaney, R.L.; Baker, A.J.M.; Edraki, M.; Erskine, P.D.; Echevarria, G.; van der Ent, A. Phytoextraction of high value elements and contaminants from mining and mineral wastes: Opportunities and limitations. *Plant Soil* **2020**, *449*, 11–37. [\[CrossRef\]](#)
- Okoroafor, P.U.; Kunisch, N.; Epede, M.N.; Ogunkunle, C.U.; Heilmeyer, H.; Wiche, O. Phytoextraction of rare earth elements, germanium and other trace elements as affected by fertilization and liming. *Environ. Technol. Innov.* **2022**, *28*, 102607. [\[CrossRef\]](#)
- Ambaye, T.G.; Vaccari, M.; Castro, F.D.; Prasad, S.; Rtimi, S. Emerging technologies for the recovery of rare earth elements (REEs) from the end-of-life electronic wastes: A review on progress, challenges, and perspectives. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2020**, *27*, 36052–36074. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Grosjean, N.; Jean, M.L.; Berthelot, C.; Chalot, M.; Gross, E.M.; Blaudez, D. Accumulation and fractionation of rare earth elements are conserved traits in the *Phytolacca* genus. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 8458. [\[CrossRef\]](#)
- Kastori, R.R.; Maksimović, V.I.; Putnik-Delić, I.M. Rare earth elements in environment and effect plants- A review. *Matica Srp. J. Nat. Sci.* **2023**, *144*, 51–72. [\[CrossRef\]](#)
- Dinh, T.; Dobo, Z.; Kovacs, H. Phytomining of rare earth elements—A review. *Chemosphere* **2022**, *297*, 134259. [\[CrossRef\]](#)
- Hu, Z.Y.; Ritcher, H.; Sparovek, G.; Schnug, E. Phycological and biochemical effect of rare earth elements on plants and their agricultural significance: A review. *J. Plant Nutr.* **2019**, *30*, 332–341.
- Agathokleus, E.; Kitao, M.; Calabrese, E.J. Hormetic dose response induced by lanthanum in plants. *Environ. Pollut.* **2019**, *244*, 332–341. [\[CrossRef\]](#)
- Xu, X.; Wand, Z. Phosphorus uptake and translocation in field grown maize after application of rare earth-containing fertilizer. *J. Plant Nutr.* **2007**, *20*, 557–568. [\[CrossRef\]](#)
- Liang, T.; Zhang, S.; Wang, L.; Kung, H.T.; Wang, Y.; Hu, A.; Ding, S. Environmental biogeochemical behaviors of rare earth elements in soil- plant system. *Environ. Geochem. Health* **2005**, *27*, 301–311. [\[CrossRef\]](#)
- Sager, M.; Wiche, O. Rare earth elements (REE): Origins, dispersion, and environmental implications—A comprehensive review. *Environments* **2024**, *11*, 24. [\[CrossRef\]](#)
- Ramos, S.J.; Dinali, G.S.; Oliveira, C.; Martins, G.C.; Moreira, C.G.; Siqueira, J.O.; Guilherme, L.R. Rareearth elements in the soil environment. *Land Pollut.* **2016**, *2*, 28–50.
- Adeel, M.; Lee, J.Y.; Zain, M.; Rizwan, M.; Nawab, A.; Ahmad, M.A.; Shafiq, M.; Yi, H.; Jilani, G.; Javed, R.; et al. Cryptic footprints of rare earth elements on natural resources and living organisms. *Environ. Int.* **2019**, *127*, 785–800. [\[CrossRef\]](#)
- Brouzitotis, A.A.; Giarra, A.; Libralato, G.; Pagano, G.; Guida, M.; Trifuoggi, M. Toxicity of rare earth elements: An overview on human health impact. *Front. Environ. Sci.* **2022**, *10*, 948041.
- Amato, A.; Becci, A.; Birloaga, I.; De Michelis, I.; Ferella, F.; Innocenzi, V.; Ippolito, N.M.; Pillar, C.; Gomez, J.; Vegliò, F.; et al. Sustainability analysis of innovative technologies for the rare earth elements recovery. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2019**, *106*, 41–53. [\[CrossRef\]](#)
- Soudek, P.; Petrova, S.; Benešová, D.; Vanek, T. Phytoextraction of toxic metals by sunflower and corn plants. *J. Food Agric. Environ.* **2019**, *8*, 383–390.
- Nnaji, N.D.; Onyeaka, H.; Miri, T.; Ugwa, C. Bioaccumulation for heavy metal removal: A review. *SN Appl. Sci.* **2019**, *5*, 125. [\[CrossRef\]](#)
- Phang, L.Y.; Mingyuan, L.; Mohammadi, M. Phytoremediation as a viable ecological and socioeconomic management strategy. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2024**, *31*, 50126–55041. [\[CrossRef\]](#)
- Gawroński, S.; Łutczyk, G.; Szulc, W.; Rutkowska, B. Urban mining: Phytoextraction of noble and rare earth elements from urban soils. *Arch. Environ. Prot.* **2022**, *48*, 24–33.

20. Sharma, S.; Tiwari, S.; Hasan, A.; Saxena, V.; Pandery, L.M. Recent advances in conventional and contemporary methods for remediation of heavy metal- contaminated soils. *Biotech* **2018**, *3*, 216. [[CrossRef](#)]
21. Takarina, N.D.; Pin, D.G. Bioconcentration Factor (BCF) and Translocation Factor (TF) of heavy metal Mangrove trees of Blankan Fish Farma. *Makara J. Sci.* **2017**, *21*, 78–81. [[CrossRef](#)]
22. Brunetti, G.; Farrag, K.; Soler-Rovira, P.; Nigro, F. Greenhouse and field studies on Cr, Cu, Pb and Zn phytoextraction by *Brassica napus* from contaminated soils in the Apulia Region, Southern Italy. *Geoderma* **2011**, *160*, 517–523. [[CrossRef](#)]
23. Mocek-Plóćiniak, A.; Mencil, J.; Zakrzewski, W.; Roszkowski, S. Phytoremediation as an effective remedy for removing trace elements from ecosystems. *Plants* **2023**, *12*, 1653. [[CrossRef](#)]
24. Rabbani, M.; Taqi Rabbani, M.; Muthoni, F.; Sun, Y.; Vahidi, E. Advancing phytomining: Harnessing plant potential for sustainable rare earth element extraction. *Bioresour. Technol.* **2024**, *401*, 130751. [[CrossRef](#)]
25. Chang, Q.; Diao, F.; Wang, Q.; Pan, L.; Dang, Z.; Guo, W. Effects of arbuscular mycorrhizal symbiosis on growth, nutrient and metal uptake by maize seedlings (*Zea mays* L.) grown in soils spiked with Lanthanum and Cadmium. *Environ. Pollut.* **2018**, *241*, 607–615. [[CrossRef](#)]
26. Netty, S.; Wardiyati, T.; Maghfoer, M.D.; Handayanto, E. Bioaccumulation of nickel by five wild plant species on nickel-contaminated soil. *J. Eng.* **2013**, *3*, 2278–8719. [[CrossRef](#)]
27. Neina, D. The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation. *Appl. Environ. Soil Sci.* **2019**, *2019*, 5794869. [[CrossRef](#)]
28. Clemente, R.; Piechur, D.J.; Bernal, M.P. Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Spain): The effect of soil amendments. *Environ. Pollut.* **2003**, *138*, 46–58. [[CrossRef](#)]
29. Xu, J.M.; Tang, C.; Chen, Z.L. The role of plant residues in pH change of acid soils differing in initial pH. *Soil Biol. Biochem.* **2006**, *28*, 709–719. [[CrossRef](#)]
30. Gajic, G.; Djurdjević, L.; Kostić, O.; Jarić, S.; Mitrović, M.; Pavlović, P. Ecological potential of plants for phytoremediation and ecorestoration of fly ash desposits and mine wastes. *Front. Environ. Sci.* **2018**, *6*, 124. [[CrossRef](#)]
31. Tsonev, T.; Lidon, F.J.C. Zinc in plants—A overview. *Emir. J. Food Agric.* **2024**, *24*, 322–333.
32. Broadley, M.R.; White, P.J.; Hammond, J.P.; Zelko, I.; Lux, A. Zinc in plants. *New Phytol.* **2007**, *173*, 677–702. [[CrossRef](#)]
33. Mir, A.R.; Pitchel, J.; Hayat, S. Copper:uptake, toxicity and tolerance in plants and management of Cu-contaminated soil. *BioMetals* **2021**, *34*, 737–759. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Kumar, V.; Pandita, S.; Sidhu, G.P.S.; Sharma, A.; Khanna, K.; Kaur, P.; Bali, A.S.; Setia, R. Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: A comprehensive review. *Chemosphere* **2021**, *262*, 127810. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Asare, M.O.; Száková, M.O.; Tlustoš, P. The fate of secondary metabolites in plants growing on Cd-, As-, and Pb-contaminated soils- a comprehensive review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2022**, *30*, 11378–11398. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Haider, F.U.; Liqun, C.; Coulter, J.A.; Cheema, S.A.; Wu, J.; Zhang, R.; Wenjun, M.; Farooq, M. Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2021**, *211*, 111887. [[CrossRef](#)]
37. Bali, A.S.; Sidhu, G.P.S. Arsenic acquisition, toxicity and tolerance in plants- from physiology to remediation: A review. *Chemosphere* **2021**, *283*, 131050. [[CrossRef](#)]
38. Zulfigar, U.; Farooq, M.; Hussain, S.; Maqsood, M.; Hussain, M.; Ishfaq, M.; Ahmad, M.; Anjum, Z. Lead toxicity in plants: Impacts and remediation. *J. Environ. Manag.* **2019**, *250*, 109557. [[CrossRef](#)]
39. Mleczek, P.; Borowiak, K.; Budka, A.; Niedzielski, P. Relationship between concentration of rare earth elements in soil and their distribution in plants growing near a frequented road. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2018**, *25*, 23695–23711. [[CrossRef](#)]
40. He, H.; Fan, C.; Peng, Q.; Wu, M.; Zheng, J.; Wu, G.L. Bioaccumulation and translocation of rare earth elements in two forage legumes grown in soils treated with coal fly ash. *Chem. Geol.* **2019**, *528*, 119284. [[CrossRef](#)]
41. Le Jean, M.; Montargès-Pelletier, E.; Rivard, C.; Grosjean, N.; Chalot, M.; Vantelon, D.; Spiers, K.M.; Blaudez, D. Locked up inside the vessels: Rare earth elements are transferred and stored in the conductive tissues of the accumulating fern *Dryopteris Erythrosora*. *Environ. Sci. Technol.* **2023**, *57*, 2768–2778. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Liang, T.; Li, K.; Wang, T. State of rare earth elements in different environmental components in mining areas of China. *Environ. Monit. Assess.* **2014**, *186*, 1499–1513. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Yuan, M.; Liu, C.; Liu, W.; Guo, M.; Morel, J.L.; Huot, H.; Yu, H.; Tang, Y.; Qiu, R. Accumulation and fractionation of rare earth elements (REEs) in the naturally grown *Phytolacca americana* L. in southern China. *Int. J. Phytoremediation* **2018**, *20*, 415–423. [[CrossRef](#)]
44. Liu, W.; Zheng, H.; Liu, C.; Guo, M.; Zhu, S.; Cao, Y.; Qiu, R.; Morel, J.L.; van der Ent, A.; Tang, Y. Variation in rare earth element (REE), aluminium (Al) and silicon (Si) accumulation among populations of the hyperaccumulator *Dicranopteris linearis* in southern China. *Plant Soil* **2021**, *461*, 565–578. [[CrossRef](#)]
45. Challaraj, E.S.; Anandkumar, B.; Natesan, M.; Maruthamuthu, S. Efficacy of rare earth elements on the physiological and biochemical characteristics of *Zea mays* L. *Aust. J. Crop Sci.* **2019**, *4*, 289–294.

46. Carpenter, D.; Boutin, C.; Allison, J.E.; Parsons, J.L.; Ellis, D.M. Uptake and effects of six rare earth elements (REEs) on selected native and crop species growing in contaminated soils. *PLoS ONE* **2015**, *10*, 0129936. [\[CrossRef\]](#)
47. Krgović, R.; Trifković, J.; Milojković-Opsenica, D.; Manojlović, D.; Marković, M.; Mutić, J. Phytoextraction of metals by *Erigeron canadensis* L. from fly ash landfill of power plant “Kolubara”. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*, 10506–10515. [\[CrossRef\]](#)
48. Zhuang, P.; Yang, Q.W.; Wang, H.B.; Shu, W.S. Phytoextraction of heavy metals by eight plant species in the field. *Water Air Soil Pollut.* **2007**, *184*, 235–242. [\[CrossRef\]](#)
49. Tyler, G. Rare earth elements in soil and plant systems-A review. *Plant Soil* **2004**, *267*, 191–206. [\[CrossRef\]](#)
50. Xiaoquan, S.; Haiou, W.; Shuzhen, Z.; Hanfa, Z.; Yan, Z.; Hong, Y.; Bei, W. Accumulation and uptake of light rare earth elements in a hyperaccumulator *Dicroptheris dichotoma*. *Plant Sci.* **2003**, *165*, 1343–1353.
51. Ozaki, T.; Enomoto, S.; Minai, Y.; Ambe, A.; Ambe, F.; Makide, Y. Beneficial effect of rare earth elements on the growth of *Dryopteris erythrosora*. *J. Plant Physiol.* **2000**, *156*, 330–334. [\[CrossRef\]](#)
52. Cakaj, A.; Hanć, A.; Lisiak-Zielińska, M.; Borowiak, K.; Drapikowska, M. *Trifolium pratense* and the heavy metal context in various urban areas. *Sustainability* **2023**, *15*, 7325. [\[CrossRef\]](#)
53. Zhang, C.; Geng, N.; Dai, Y.; Ahmad, Z.; Li, Y.; Han, S.; Zhang, H.; Chen, J.; Yang, J. Accumulation and distribution characteristics of rare earth elements (REEs) in the naturally grown marigold (*Tagetes erecta* L.) from the soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2023**, *30*, 46355–46367. [\[CrossRef\]](#)
54. Azizi, M.; Faz, A.; Zornoza, R.; Martinez-Martinez, S.; Acosta, J.A. Phytoremediation potential of native plant species in mine soils polluted by metal(loid)s and rare earth elements. *Plants* **2023**, *12*, 1219. [\[CrossRef\]](#)
55. Kotelnikova, A.D.; Ragova, O.B.; Stolbova, V.V. Lanthanides in the Soil: Routes of Entry, Content, Effect on Plants, and Genotoxicity (a Review). *Degrad. Rehabil. Conserv. Soils* **2021**, *54*, 117–134. [\[CrossRef\]](#)
56. Antoniadis, V.; Shaheen, S.M.; Stark, H.J.; Wennrich, R.; Levizou, E.; Merbach, I.; Rinklebe, J. Phytoremediation potential of twelve wild plant species for toxic elements in a contaminated soil. *Environ. Int.* **2021**, *146*, 106233. [\[CrossRef\]](#)
57. Sasmaz, M.; Akgul, B.; Yildirim, D.; Sasmaz, A. Mercury uptake and phytotoxicity in terrestrial plants grown naturally in the Gumuskoy (Katahya) mining area, Turkey. *Int. J. Phytoremediation* **2016**, *18*, 69–76. [\[CrossRef\]](#)
58. Khashji, S.; Karimi, B.; Makhdomi, P. Phytoremediation with *Festuca arundinacea*: A mini review. *J. Health Rep. Technol.* **2018**, *4*, e86625. [\[CrossRef\]](#)
59. Albornoza, C.B.; Larsen, K.; Landa, R.; Quirga, M.A.; Najle, R.; Marcovecchio, J. Lead and zinc determinations in *Festuca arundinacea* and *Cynodon dactylon* collected from contaminated soils in Tandil (Buenos Aires Provinces), Argentina. *Environ. Earth Sci.* **2016**, *75*, 42.
60. Steligia, T.; Kluk, D. Application of *Festuca arundinacea* in phytoremediation of soils contaminated with Pb, Ni, Cd and petroleum hydrocarbons. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2020**, *194*, 110409. [\[CrossRef\]](#)
61. Batty, L.C.; Anslow, M. Effect of a Polycyclic Aromatic Hydrocarbon on the phytoremediation of zinc by two plant species (*Brassica juncea* and *Festuca Arundinacea*). *Int. J. Phytoremediation* **2008**, *10*, 236–251. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
62. Ziarati, P.; Vambol, V.; Vambol, S. Use of inductively coupled plasma optical emission spectrometry detection in determination of arsenic bioaccumulation in *Trifolium pratense* L. from contaminated soil. *Ecol. Quest.* **2019**, *31*, 15–22.
63. Manke, J.; Praspaliauskas, M.; Pedisius, N.; Sujetoviene, G. Evaluation of phytoremediation efficiency of shooting range soil using the bioaccumulation potential and sensitivity of different plant species. *Ecol. Eng.* **2024**, *198*, 107134. [\[CrossRef\]](#)
64. Zand, A.D.; Muhling, K.H. Phytoremediation capability and copper uptake of maize (*Zea mays* L.) in copper contaminated soils. *Pollutans* **2022**, *2*, 53–65. [\[CrossRef\]](#)
65. Rizwan, M.; Ali, S.; Qayyum, M.F.; Ok, Y.S.; Zia-ur-Rehman, M.; Abbas, Z.; Hannan, F. Use of maize (*Zea mays* L.) for phytomanagement of Cd-contaminated soils: A critical review. *Environ. Geochem. Health* **2017**, *39*, 259–277.
66. Boros-Lajszner, E.; Adiloglu, S.; Goker, M. Phytoremediation: Elimination of hexavalent chromium heavy metal using corn (*Zea mays* L.). *Cereal Res. Commun.* **2021**, *49*, 65–72.
67. Wyszowska, J.; Kucharski, J. Phytoremediation of soil contaminated with nickel, cadmium and cobalt. *Int. J. Phytoremediation* **2021**, *23*, 252–262.
68. Jean, M.L.; Grosjean, N.; Spiers, K.; Rivard, C.; Montarges-Pelletier, E.; Flayac, J.; Gross, E.; Thomine, S.; Merlot, S.; Blaudez, D. Ferns for rare earth elements (REE)- toward deciphering REE transfer to plants using the accumulating fern *Dryopteris erythrosora*. In Proceedings of the Final Conference of the COST NOTICE TD1407: Network on Technology-Critical Elements—from Environmental Processes to Human Health Threats, Zagreb, Croatia, 2–3 April 2019.
69. Madanan, M.T.; Shan, I.K.; Varghese, G.K.; Kaushal, R.K. Application of Aztec marigold (*Tagetes erecta* L.) for phytoremediation of heavy metal polluted lateritic soil. *Environ. Chem. Ecotoxicol.* **2021**, *3*, 17–22. [\[CrossRef\]](#)

70. *DIN/ISO 13878:1998*; Soil quality—Determination of total nitrogen content by dry combustion (“elemental analysis”). ISO: Geneva, Switzerland, 1998.
71. *ISO 10694:1995*; Soil quality—Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis). ISO: Geneva, Switzerland, 1995.

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Chelate-induced accumulation of rare earth elements in plants grown on soil and ash-based growing media

Dominika Gmur*, Grzegorz Siebielec, Monika Pecio

Department of Soil Science and Environmental Analyses, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Czartoryskich 8, 21-100 Puławy, POLAND

*Corresponding author: dgmur@iung.pulawy.pl

Abstract. Phytoextraction is a phytoremediation technique that uses plants to remediate contaminated areas. The aim of the study was to investigate the differences between the use of two doses of chelate (5 mM and 10 mM): CA, EGTA, and EDTA on three selected plant species which grew on two substrates (soil with increased REE content, ash). The study focused on the following rare earth elements (REE) representatives: lanthanum (La), cerium (Ce), europium (Eu), and gadolinium (Gd). Three plant species were included in the study: common yarrow (*Achillea millefolium* L.), red clover (*Trifolium pratense* L.) and autumn fern (*Dryopteris erythrosora* (D.C.Eaton) Kuntze). The plants were grown on two substrates, the main components of which were soil with increased REE content and ash. Plant samples, divided into aboveground part and underground part, were analyzed by ICP-MS. The obtained REE concentrations in plant tissues ranged from 0.02 to 60.20 mg kg⁻¹ (La), 0.05 to 62.22 mg kg⁻¹ (Ce), 0.01 to 45.91 mg kg⁻¹ (Eu), and 0.02 to 63.60 mg kg⁻¹ (Gd). To determine the ability of plants to phytoextract REE, two factors were calculated: the translocation factor (TF) and the bioconcentration factor (BCF). The highest TF value was obtained for *D. erythrosora* and *A. millefolium*, when they were grown on substrate with ash. BCF>1 was not obtained for any of the plants tested. In general, the effect of chelates on REE accumulation was plant-specific. The application of CA resulted in the most efficient REE accumulation by plants.

Keywords: rare earth elements, phytoextraction, contaminated areas, chelate, phytoremediation, common yarrow, red clover, autumn fern

INTRODUCTION

Rare earth elements (REE) have a wide range of applications. They are used, among others, in industry, agriculture, modern technologies or so-called “green” technologies. As a result of their increasingly common use, they might be released into the environment in the form of waste. Due to the mining sector associated with the extraction of rare metals, their impact on the environment and soil pollution is increasing (Lima, Ottosen, 2021). The waste can be a secondary source of their transfer to the environment.

REE accumulation in soil can potentially create a risk of toxic effects on living organisms or even humans in cer-

tain cases. It has been shown that REE can negatively affect the level of brain intelligence, which can ultimately result in memory loss. REEs can also enter the placenta and blood during pregnancy, which can lead to birth defects (Wu et al., 2013; Adeel et al., 2019).

According to the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), REEs are a group of 15 lanthanides with atomic numbers from 57 to 71 and 2 scandiums with atomic numbers 21 and 39, namely lanthanum (La), cerium (Ce), praseodymium (Pr), neodymium (Nd), promethium (Pm), samarium (Sm), europium (Eu), gadolinium (Gd), terbium (Tb), dysprosium (Dy), holmium (Ho), erbium (Er), thulium (Tm), ytterbium (Yb), lutetium (Lu), scandium (Sc) and yttrium (Y) (Tao et al., 2022). REEs are



not as rare in the Earth's crust as their name suggests. The most abundant element is Ce, since its average concentration is about 66.5 mg kg⁻¹. However, REE deposits are scattered in the Earth's crust in low concentrations (Dinh et al., 2022). Natural resources of REEs are limited so these elements are treated as critical raw materials. Therefore there is an increasing interest in recovery of metals, including REEs, from industrial waste such as ash or REE enriched soils.

In the case of plants, REEs are accumulated in the order root>leaf>stem>flower>fruit. However, near polluted areas, the metal content on the leaf surface is higher due to dust deposition (Yin, 2021). Phytoextraction is a process where plants extract contaminants from soil or water, then transport and store them in above-ground tissues. The most effective plants for this purpose are hyperaccumulators. These are plant species that can accumulate larger amounts of metals in their above-ground parts without toxic effects on them. For REE hyperaccumulators, the threshold concentration is 100 to 1000 mg kg⁻¹ (Dinh et al., 2022; Deepika, Haritash, 2023). This is an environmentally friendly and inexpensive method, useful in soil remediation, but the main limitation is that it is inefficient. Therefore, ways to improve the method are being sought (Zhang et al., 2024). Adding chelates in phytoremediation methods can accelerate metal removal from soil or waste. Chelating agents act as a chemical bond, which results in the formation of metal chelate complexes. These chelates contribute to the increased solubility and plant availability of metals (Wu et al., 2013; Salifu et al., 2024). It has been shown that chelators can increase the rate of absorption and translocation of metals by up to 45% from roots to above-ground plant parts in the process of phytoremediation. Both synthetic and natural compounds can be used as chelators. The synthetic ones include: ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and nitrilotriacetic acid (NTA), and the natural ones: histidine, citric acid, malic acid and citrate (Beiyuan et al., 2021; Zulkernain, et al., 2023). Chelators such as EDTA or Amino-acids (AA) act by increasing the bioavailability of heavy metals and rare earth elements. Low molecular weight organic compounds, including malic acid, citric acid, histidine and citrates, are secreted by roots into the soil and then act as chelating agents enabling the release, translocation and accumulation of heavy metals (Rabbani et al., 2024). Chelator-induced solubility of metals can pose an environmental risk related to leaching of metals to groundwater. Therefore, it would be justified to perform such induced phytoextraction under controlled conditions, for example in containers without leakage of soil solution. Such a technology would enable use of constructed substrates, produced on a basis of industrial waste combined with some organic materials to improve plant growth conditions.

In order to fill some knowledge gaps, the aim of the study was to demonstrate the differences between the use of two doses of chelators (5 mM and 10 mM): CA, EGTA,

and EDTA on three selected plant species which grew on two substrates. The plant species were used: *Achillea millefolium* L., *Trifolium pratense* L., *Dryopteris erythrosora* (D. C.Eaton) Kuntze). In this study, the following REE representatives were measured in plant tissues: lanthanum (La), cerium (Ce), europium (Eu), gadolinium (Gd). The substrates were used based on: soil with increased REE content and power plant ash.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

The pot experiment was conducted in pots in the greenhouse of the Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute in Puławy (Poland). The experiment was conducted under controlled conditions from the beginning of May to the end of September 2024.

Two substrate variants were used as media to grow the plants:

- soil enriched with LaCl₃, CeCl₃, EuCl₃ and GdCl₃ (substrate 1). All these elements were added to the soil as water solutions at rate 100 mg of an element per kg of soil. Additionally compost was added to the soil to improve plant growth conditions and to provide nutrients. The compost came from the GWDA company in Piła. It consisted of 30.2% organic matter and the pH was 6.2. It was produced on the basis of a mixture of sewage sludge and selectively collected green municipal, food and agricultural waste. The compost is certified as a soil improver. Soils had been left for 1 month after adding the REEs and the compost to let them react with soil before the experiment was started. Total weight of substrate 1 in pot was 2 kg (95% soil and 5% compost).
- a substrate prepared on a basis of ash from a power plant located in Upper Silesia (substrate 2). Peat was added to the substrate to lower pH of ash and GWDA compost to further improve plant growth conditions. The peat added was a commercial product. The substrate had been left for 1 month after mixing ash with peat and compost to let them react. Total weight of substrate 2 in pot was 1.66 (30% ash, 50% peat, 20% compost). In substrate 2 the weight of the substrate was lower compared to substrate 1 due to the final volume of this substrate.

Three plant species were then grown in the pots: red clover (*Trifolium pratense* L.) and common yarrow (*Achillea millefolium* L.) were sieved and autumn fern (*Dryopteris erythrosora* (D.C.Eaton) Kuntz) was planted from seedlings. *T. pratense* is a plant belonging to the Fabaceae family, cultivated in most regions with a temperate climate in Europe and around the world. There are studies on the resistance of *T. pratense* to the accumulation of large amounts of heavy metals and other pollutants (Dluhosova et al., 2018; Cakaj et al., 2023; Zhou et al., 2024). *A. millefolium* (family: Asteraceae) is a perennial herbaceous plant that occurs almost all over the world. This plant can

grow even in poor soils, if not very acidic, and does not have high requirements for temperature or moisture (Syso et al., 2016; Ali et al., 2017). According to the available literature, *D. erythrosora* (family: Dryopteridaceae) is a fern native to Japan, which under natural conditions can accumulate high concentrations of REE from the soil and can be considered as a natural REE hyperaccumulator (Ozaki et al., 2000; Yoo et al. 2017).

The chemical characteristics of the substrate components are presented in Table 1. The soil was alkaline (pH 7.1) but after mixing with compost and reacting pH dropped to 6.2. Soil carbon (C) content was low – 1.19%. The contents of REE of interest were as follows: 8.4 mg kg⁻¹, 18.5 mg kg⁻¹, 0.24 mg kg⁻¹ and 1.47 mg kg⁻¹ for La, Ce, Eu and Gd, respectively. The power plant ash used to prepare the substrate 2 was alkaline (pH 8.5) and it contained 20.6% of C. The ash was relatively rich in Fe (1.40%) and Al (1.56%) and it contained 798 mg Ba kg⁻¹, 893 mg Zn kg⁻¹, 11.2 mg Cd kg⁻¹ and 117 mg Pb kg⁻¹ to mention potentially toxic trace elements. The contents of REE in ash were as follows: 8.9 mg kg⁻¹, 18.7 mg kg⁻¹, 0.54 mg kg⁻¹ and 1.91 mg kg⁻¹ for La, Ce, Eu and Gd, respectively.

The final content of elements in the substrates is presented in Table 2.

One month after establishing plant growth, chelators were added to the soil as aqueous solutions. Three chelators were used in the experiment: citric acid (CA), egtazic acid (EGTA) and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). The chelators were used at two concentration levels: 5 and 10 mM per kg of soil. CA is classified as a low molecular weight organic acid, it is an easily biodegradable natural chelate. It has a high capacity to chelate heavy metals in the soil and due to the small size of its molecules it is absorbed by plant roots at a faster rate compared to EDTA (Ibrahim, 2023). EGTA is a chelate that is biodegradable and non-toxic to organisms. It has high efficiency, and when used in phytoextraction of heavy metals, it does not show negative effects on growth and yield (Mohrazi et al., 2023). EDTA is a non-biodegradable chemical compound that contributes to the increase of the solubility of heavy metals in the soil solution, which results in increased bioavailability of heavy metals and their uptake by plants. However, the use of EDTA as a chelator is associated with a risk to the environment due to the leaching of metals when applied to soil in situ (Poursattari, Hadi, 2022). Plants growing in substrates without the use of chelators were used as controls. The experiment was watered with distilled water according to current needs. The experiment was performed in triplicate.

Plant and soil analyses

After 5 months, the plants were cut and the underground parts were gently separated from the growing media. The plants were divided to aboveground parts and undergrounds

Table 1. Content of elements (mg kg⁻¹) and other chemical properties of the soil (before adding REE solutions) and the power plant ash.

Element	Soil	Power plant ash
Li	3.25	11.31
Be	0.19	0.83
Al	4967.47	15669.29
V	14.19	35.53
Cr	10.59	46.60
Mn	225.16	6313.97
Fe	7244.23	14030.51
Co	3.20	15.05
Ni	7.58	53.49
Cu	6.75	498.03
Zn	48.39	892.71
As	2.71	9.30
Se	0.19	1.08
Sr	1.08	36.12
Mo	0.24	3.69
Ag	0.14	4.77
Cd	0.24	11.17
Sn	0.04	22.68
Sb	0.04	16.48
Ba	31.73	797.73
La	8.42	8.90
Ce	18.52	18.65
Eu	0.24	0.54
Gd	1.47	1.91
Tl	0.04	0.39
Pb	12.91	117.42
Bi	0.09	6.29
Na	40.31	8769.68
Mg	941.25	10300.19
K	1768.18	18454.72
Ca	1167.80	130492.47
pH in H ₂ O	7.13	8.55
EC [μS/cm]	99	11080
Total nitrogen [%N]	0.09	0.12
Total carbon [%C]	1.19	20.60

Table 2. Contents of the tested REE: La, Ce, Eu and Gd [mg kg⁻¹] in the substrates used in the experiment. Two substrate were used: substrate 1 (95% soil, 5% compost), and substrate 2 (30% ash from a power plant, 20% compost, 50% peat).

Substrate	La	Ce	Eu	Gd
1	103.55	107.52	90.01	100.54
2	9.98	20.16	0.66	2.28

parts. For *A. millefolium*, the above-ground parts included: stem, leaves, inflorescence, while the underground parts included: tap roots and fascicle roots. On the other hand, for *T. pratense*, the above-ground parts included: shoots, leaves, flowers, and the underground parts: roots. For *D. erythrosora*, the above-ground parts included: leaves, and the underground parts included: rhizomes and adventitious roots. The samples were then thoroughly rinsed first in tap water and then in distilled water. Subsequently the samples were dried in an oven at 50°C for 2 days. Then the plants were weighed on a laboratory scale, the above-ground and underground parts separately. The dried samples were ground in an electric mill and subjected to further laboratory analyses. In order to determine the content of elements in the dry mass of plants 0.5 g of separately above ground parts and underground parts were weighed to be digested in concentrated HNO₃ in Teflon PFA vessels in a microwave-accelerated reaction system (MarsXpress; CEM Corp., Matthews, NC, USA). The prepared liquid samples were analyzed using ICP-MS (Agilent 7500ce). As a certified reference material, soya bean flour (INCT-SBF-4) and mixed Polish herbs (INCT-MPH-2) were used. Then the samples were mineralized in a microwave oven.

The soil samples were dried in a dryer at 50 °C for 4 days, then sieved through a 2 mm sieve and homogenized. The substrate samples were analyzed for pH in water (1:5 substrate – water v/v rate).

Two indices were calculated to assess the chelate-assisted phytoextraction intensity. The bioaccumulation factor (BCF) was calculated based on the following equation:

$$BCF = C_{\text{harvested tissue}} / C_{\text{soil/substrate}}$$

where:

$C_{\text{harvested tissue}}$ is the concentration of metal in collected plant tissues,

$C_{\text{soil/substrate}}$ is the concentration of metal in soil or substrate.

The translocation factor (TF) was calculated as follows:

$$TF = C_{\text{shoot}} / C_{\text{root}}$$

where:

C_{shoot} is the concentration of metal in shoots,

C_{root} is the concentration of metal in roots.

These factors characterize the ability of plants to tolerate and accumulate metals (Takarina, Pin, 2017).

Statistical analysis

The statistical evaluation of the obtained results was performed using the Statistica v. 13.1 program. The results analyzed were the average of 3 repetitions. The experiment included the following factors: chelate and type

of substrate for the plant species. The results obtained in the experiment were analyzed using factorial analysis of variance (ANOVA). The significance of differences was assessed using the Tukey's (HSD) test (significance level $\alpha=0.05$).

RESULTS

Plant growth

The effect of individual chelates on plant growth and yield was varied and dependent on the plant species and substrate. Biomass growth data for three plant species are presented in Figure 1.

In pots planted with *A. millefolium* growing on substrate 1, the greatest loss of biomass was observed after the application of 5 mM EGTA and 5 mM EDTA. A decrease in biomass of 22% (for 5 mM EGTA) and 21% (for 5 mM EDTA) was noted. In the case of growth on substrate 2, *A. millefolium* responded with a significant decrease in growth only after the application of CA at a concentration of 10 mM (by 19%). On the other hand, the application of 10 mM EDTA stimulated its growth to the greatest extent (by 15% compared to the control).

In the case of *T. pratense* grown in substrate 1, all added chelates significantly increased its growth except for 10 mM CA, where the increase in biomass was insignificant. The greatest growth-stimulating effect was observed after the addition of EDTA at both doses: with 5 mM EDTA, a 34% increase in biomass was noted, and with 10 mM EDTA an increase of 51%. No decrease in growth was observed in *T. pratense* grown in substrate 1. For substrate 2, the obtained biomass was significantly lower compared to substrate 1. For *T. pratense* grown in substrate 2, a slight increase in biomass was noted after the use of 5 mM CA and 5 mM EDTA, an increase of 11% and 15%, respectively.

In the case of *D. erythrosora* growing on medium 1, a significant increase in biomass was noted after the application of chelates: 5 mM EGTA, 5 mM EDTA and 10 mM EGTA, an increase of 22%, 32% and 22%, respectively. For substrate 2, the greatest significant effect was noted after the application of 5 mM and 10 mM EDTA, biomass increased by about 40%.

Change of substrate pH

Tables 3 and 4 show the pH values of both substrates used in the experiment after plant harvest. Analysis of variance did not show statistical significance for pH for plant species and substrates. The initial pH value of substrate 1 was 6.2, while for substrate 2 produced with ash as a base it was 7.5.

For substrate 1 *A. millefolium* increased the pH to 6.6 (control) compared to the initial pH. Adding chelates to the

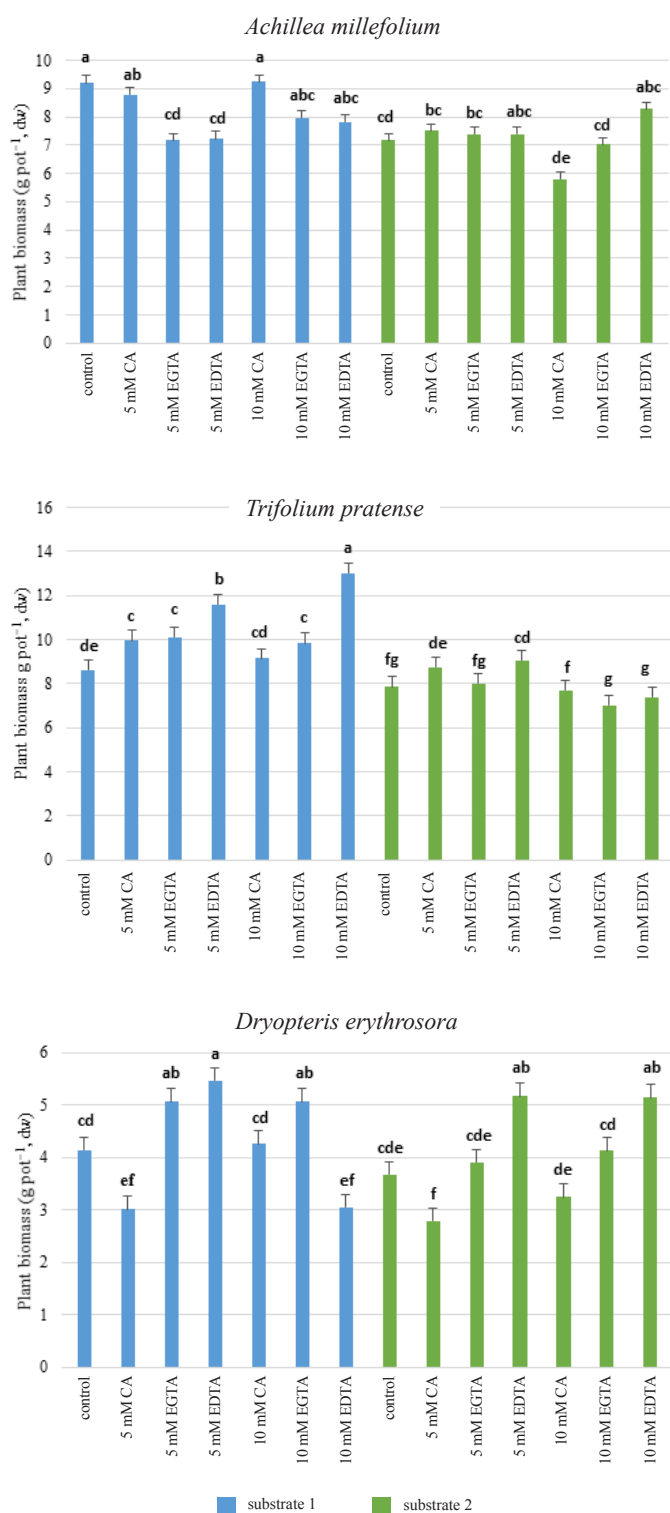


Figure 1. The total biomass production (g pot^{-1} , dw, mean $\pm$ SD, $n=3$) for *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* and *Dryopteris erythrosora* grown on substrate 1 (95% soil, 5% compost), and substrate 2 (30% ash from a power plant, 20% compost, 50% peat). Values marked with different letters indicate significant differences within substrates and chelators for each plants species at $p < 0.05$ according to Tukey's HSD test (ANOVA).

Table 3. Values of pH of the substrates used in the experiment after the plant harvest (pH in H_2O , mean $\pm$ SD, $n=3$) in substrate 1 (95% soil, 5% compost).

Chelate	<i>Achillea millefolium</i>	<i>Trifolium pratense</i>	<i>Dryopteris erythrosora</i>
Control	6.6 $\pm$ 0.15	5.9 $\pm$ 0.10	6.2 $\pm$ 0.20
5 mM CA	6.2 $\pm$ 0.10	5.9 $\pm$ 0.05	5.9 $\pm$ 0.17
5 mM EGTA	5.9 $\pm$ 0.09	5.6 $\pm$ 0.10	5.9 $\pm$ 0.16
5 mM EDTA	6.2 $\pm$ 0.14	5.6 $\pm$ 0.09	6.1 $\pm$ 0.03
10 mM CA	5.5 $\pm$ 0.07	5.6 $\pm$ 0.17	5.7 $\pm$ 0.17
10 mM EGTA	5.6 $\pm$ 0.13	6.1 $\pm$ 0.14	5.7 $\pm$ 0.16
10 mM EDTA	5.6 $\pm$ 0.44	5.9 $\pm$ 0.06	5.9 $\pm$ 0.25

Table 4. Values of pH of the substrates used in the experiment after the plant harvest (pH in H_2O , mean $\pm$ SD, $n=3$) in substrate 2 (30% ash from a power plant, 20% compost, 50% peat).

Chelate	<i>Achillea millefolium</i>	<i>Trifolium pratense</i>	<i>Dryopteris erythrosora</i>
Control	7.3 $\pm$ 0.19	7.4 $\pm$ 0.02	7.4 $\pm$ 0.03
5 mM CA	7.3 $\pm$ 0.08	7.3 $\pm$ 0.04	7.4 $\pm$ 0.06
5 mM EGTA	7.5 $\pm$ 0.196	7.4 $\pm$ 0.04	7.6 $\pm$ 0.04
5 mM EDTA	7.3 $\pm$ 0.06	7.3 $\pm$ 0.06	7.4 $\pm$ 0.13
10 mM CA	7.2 $\pm$ 0.02	7.3 $\pm$ 0.06	7.3 $\pm$ 0.04
10 mM EGTA	7.3 $\pm$ 0.03	7.3 $\pm$ 0.03	7.3 $\pm$ 0.08
10 mM EDTA	7.4 $\pm$ 0.04	7.3 $\pm$ 0.18	7.3 $\pm$ 0.10

substrate decreased the pH for *A. millefolium* and *D. erythrosora* compared to the control. For *T. pratense*, the addition of 10 mM EGTA increased the pH by 0.2 compared to the control.

For substrate 2 all plants grown without the addition of chelates (control) decreased the pH of the substrate compared to the initial pH. For *A. millefolium*, the addition of 5 mM EGTA and 10 mM EDTA increased the pH value by 0.2 and 0.1, respectively, compared to the control. Similarly, the addition of 5 mM EGTA increased the pH in *D. erythrosora* by 0.2. In the case of *T. trifolium*, after the application of chelates, the pH was equal or lower compared to the control.

Accumulation of REE in plants tissues

The concentrations of the measured REEs (La, Ce, Eu, Gd) in plant parts (aboveground and underground parts, separately) are presented in Tables 5-7. Two-way analysis of variance showed a significant effect of chelates and substrate types on the aboveground and underground parts of plants. Studies have shown that plants obtained many times higher concentrations of rare earth elements from substrate 1 than from substrate 2. It can be assumed that was driven by much lower pH and the fact that REEs were added as so-

Table 5. Concentrations of La, Ce, Eu, and Gd in above ground parts and underground parts of *Achillea millefolium* when grown on two substrates (mg kg⁻¹, mean± SD, *n* = 3). The substrates used were as follows: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% ash from a power plant, 20% compost, 50% peat).

Substrate	Chelator	Above ground parts				Underground parts			
		La	Ce	Eu	Gd	La	Ce	Eu	Gd
1	Control	1.68 ±0.24 ab	1.46 ±0.36 b	0.31 ±0.03 e	0.95 ±0.26 b	43.59 ±0.92 b	37.40 ±0.75 b	23.76 ±0.33 cd	45.74 ±2.82 b
1	5 mM CA	1.81 ±0.15 ab	1.67 ±0.16 b	0.57 ±0.02 de	1.28 ±0.12 ab	37.78 ±5.39 cd	29.29 ±5.76 c	32.41 ±4.17 b	40.15 ±2.18 bc
1	5 mM EGTA	1.58 ±0.26 c	1.78 ±0.23 b	0.67 ±0.17 cd	1.46 ±0.19 ab	57.63 ±0.26 a	53.15 ±0.68 a	41.84 ±2.65 a	63.60 ±3.43 a
1	5 mM EDTA	1.81 ±0.15 ab	1.69 ±0.09 b	1.50 ±0.22 b	3.50 ±0.54 a	41.40 ±0.82 bc	28.53 ±2.58 cd	14.76 ±1.47 e	35.61 ±0.85 d
1	10 mM CA	2.04 ±0.03 a	2.26 ±0.36 b	0.72 ±0.29 cd	1.43 ±0.69 ab	33.68 ±0.56 d	27.23 ±2.83 cd	19.76 ±0.08 d	39.70 ±1.27 c
1	10 mM EGTA	1.71 ±0.09 ab	1.74 ±1.06 b	1.05 ±0.21 c	2.12 ±0.10 a	39.11 ±0.63 bc	41.90 ±0.52 b	20.53 ±0.51 cd	34.59 ±5.09 d
1	10 mM EDTA	2.00 ±0.09 a	2.82 ±1.06 a	4.00 ±0.21 a	3.70 ±0.10 a	32.56 ±0.63 e	43.16 ±0.52 b	32.38 ±0.51 c	31.37 ±5.09 d
2	Control	0.04 ±0.02 d	0.10 ±0.03 c	0.02 ±0.01 f	0.06 ±0.03 c	0.36 ±0.01 f	0.58 ±0.0352 e	0.23 ±0.06 f	0.40 ±0.04 e
2	5 mM CA	0.05 ±0.02 d	0.11 ±0.02 c	0.03 ±0.01 f	0.06 ±0.01 c	0.19 ±0.01 f	0.12 ±0.01 e	0.12 ±0.01 f	0.21 ±0.01 e
2	5 mM EGTA	0.08 ±0.02 d	0.15 ±0.03 c	0.05 ±0.01 f	0.13 ±0.03 c	0.31 ±0.08 f	0.18 ±0.039 e	0.05 ±0.01 f	0.32 ±0.34 e
2	5 mM EDTA	0.09 ±0.03 d	0.13 ±0.05 c	0.03 ±0.02 f	0.08 ±0.05 c	0.24 ±0.03 f	0.14 ±0.05 e	0.05 ±0.01 e	0.08 ±0.01 e
2	10 mM CA	0.07 ±0.01 d	0.12 ±0.02 c	0.04 ±0.01 f	0.06 ±0.01 c	0.11 ±0.01 f	0.14 ±0.01 e	0.04 ±0.01 f	0.08 ±0.01 e
2	10 mM EGTA	0.04 ±0.01 d	0.08 ±0.01 c	0.01 ±0.0001 f	0.05 ±0.005 c	0.25 ±0.02 f	0.27 ±0.01 e	0.07 ±0.02 f	0.25 ±0.03 e
2	10 mM EDTA	0.05 ±0.01 d	0.12 ±0.03 c	0.02 ±0.01 f	0.07 ±0.02 c	0.32 ±0.03 f	0.34 ±0.04 e	0.17 ±0.03 e	0.28 ±0.08 e

Values marked with different letters (a, b, c, etc.) for each element in relation to substrates and chelators are significantly different at *p* < 0.05 according to Tukey's HSD test (ANOVA).

Table 6. Concentrations of La, Ce, Eu, and Gd in above ground parts and underground parts of *Trifolium pratense* when grown on two substrates (mg kg⁻¹, mean±SD, *n* = 3). The substrates used were as follows: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% ash from a power plant, 20% compost, 50% peat).

Substrate	Chelator	Above ground parts				Underground parts			
		La	Ce	Eu	Gd	La	Ce	Eu	Gd
1	Control	3.98 ±0.69 a	3.01 ±0.39 b	0.88 ±0.16 c	2.47 ±0.33 c	42.12 ±1.77 b	43.13 ±3.78 b	16.16 ±1.37 d	39.13 ±0.28 bc
1	5 mM CA	3.63 ±0.14 b	2.96 ±0.04 c	0.98 ±0.14 c	2.71 ±0.18 c	35.89 ±1.54 c	34.18 ±1.43 c	15.19 ±0.65 d	37.56 ±2.00 cd
1	5 mM EGTA	3.47 ±0.25 b	2.50 ±0.22 d	1.01 ±0.17 c	2.68 ±0.18 c	37.45 ±0.25 bc	35.15 ±0.68 c	22.77 ±2.65 c	34.07 ±3.42 de
1	5 mM EDTA	3.45 ±0.34 b	3.03 ±0.23 b	2.62 ±0.22 b	5.28 ±0.39 b	40.46 ±1.30 bc	33.34 ±2.12 c	23.11 ±0.30 c	33.66 ±1.04 de
1	10 mM CA	3.56 ±0.32 b	2.29 ±0.19 d	1.05 ±0.12 c	2.26 ±0.26 c	60.20 ±2.18 a	44.84 ±1.65 b	30.13 ±1.05 b	51.15 ±3.45 a
1	10 mM EGTA	2.88 ±0.05 c	4.01 ±0.15 a	3.70 ±0.18 a	5.94 ±0.01 b	60.16 ±4.72 a	62.22 ±5.15 a	45.91 ±6.40 a	43.19 ±2.76 b
1	10 mM EDTA	3.55 ±0.20 b	3.82 ±0.36 a	3.98 ±0.70 a	10.20 ±0.53 a	32.56 ±0.86 c	43.16 ±0.42 b	32.38 ±1.57 b	31.37 ±1.54 d
2	Control	0.04 ±0.01 d	0.07 ±0.01 e	0.02 ±0.01 d	0.05 ±0.02 d	0.42 ±0.03 d	0.53 ±0.02 d	0.23 ±0.03 e	0.39 ±0.04 e
2	5 mM CA	0.06 ±0.02 d	0.09 ±0.01 e	0.02 ±0.01 d	0.07 ±0.03 d	0.48 ±0.18 d	0.29 ±0.06 d	0.40 ±0.18 e	0.39 ±0.06 e
2	5 mM EGTA	0.04 ±0.02 d	0.10 ±0.01 e	0.02 ±0.01 d	0.04 ±0.01 d	0.25 ±0.05 d	0.34 ±0.06 d	0.16 ±0.06 f	0.19 ±0.05 e
2	5 mM EDTA	0.02 ±0.01 d	0.05 ±0.01 e	0.01 ±0.01 d	0.02 ±0.01 d	0.24 ±0.10 d	0.14 ±0.03 d	0.05 ±0.01 e	0.08 ±0.02 e
2	10 mM CA	0.03 ±0.03 d	0.08 ±0.05 e	0.06 ±0.07 d	0.04 ±0.02 d	0.62 ±0.13 d	0.80 ±0.13 d	0.43 ±0.03 e	0.78 ±0.09 e
2	10 mM EGTA	0.04 ±0.01 d	0.08 ±0.01 e	0.01 ±0.01 d	0.03 ±0.01 d	0.29 ±0.06 d	0.25 ±0.01 d	0.10 ±0.02 e	0.30 ±0.06 e
2	10 mM EDTA	0.02 ±0.01 d	0.05 ±0.02 e	0.01 ±0.01 d	0.03 ±0.01 d	0.32 ±0.05 d	0.34 ±0.01 d	0.17 ±0.03 e	0.28 ±0.01 e

Values marked with different letters (a, b, c, etc.) for each element in relation to substrates and chelators are significantly different at *p* < 0.05 according to Tukey's HSD test (ANOVA).

Table 7. Concentrations of La, Ce, Eu, and Gd in aboveground parts and underground parts of *Dryopteris erythrosora* when grown on two substrates (mg kg⁻¹, mean±SD, $n = 3$). The substrates used were as follows: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% ash from a power plant, 20% compost, 50% peat).

Substrate	Chelator	Above ground parts				Underground parts			
		La	Ce	Eu	Gd	La	Ce	Eu	Gd
1	Control	8.73 ±0.09 d	7.48 ±0.79 d	2.61 ±0.09 b	3.29 ±0.10 e	51.61 ±0.41 a	35.15 ±2.72 c	20.15 ±1.28 b	44.77 ±2.37 a
1	5 mM CA	9.67 ±1.99 c	9.08 ±1.20 c	3.60 ±0.10 a	4.99 ±0.33 c	38.36 ±1.79 b	45.11 ±3.90 a	29.74 ±2.09 a	42.00 ±0.75 ab
1	5 mM EGTA	7.98 ±0.25 de	5.99 ±0.21 d	2.53 ±0.08 b	3.42 ±0.30 e	39.37 ±5.85 b	34.24 ±0.44 c	22.87 ±1.11 b	37.36 ±1.82 b
1	5 mM EDTA	9.11 ±0.47 c	6.02 ±0.28 d	3.00 ±0.64 ab	2.82 ±0.03 f	28.35 ±6.006 c	27.00 ±5.23 d	30.30 ±1.46 a	25.40 ±2.11 c
1	10 mM CA	23.54 ±2.61 a	15.24 ±2.86 a	3.24 ±0.36 ab	7.71 ±0.98 a	49.15 ±1.64 a	40.98 ±1.83 b	21.28 ±0.55 b	42.40 ±2.99 a
1	10 mM EGTA	14.66 ±0.19 b	12.30 ±0.26 b	3.57 ±0.14 a	6.13 ±0.53 b	43.04 ±1.18 b	47.33 ±1.00 a	20.40 ±3.17 b	38.99 ±0.67 b
1	10 mM EDTA	12.08 ±1.21 bc	9.00 ±0.38 c	1.47 ±0.26 c	4.17 ±0.19 c	54.56 ±1.67 a	46.56 ±0.46 a	28.94 ±4.01 a	37.27 ±2.05 b
2	Control	0.14 ±0.02 f	0.22 ±0.04 e	0.01 ±0.01 d	0.03 ±0.01 g	0.25 ±0.03 d	0.47 ±0.01 e	0.03 ±0.01 c	0.11 ±0.03 d
2	5 mM CA	0.30 ±0.05 f	0.31 ±0.04 e	0.16 ±0.06 d	0.18 ±0.06 g	0.18 ±0.06 d	0.28 ±0.01 e	0.04 ±0.01 c	0.07 ±0.001 d
2	5 mM EGTA	0.25 ±0.03 f	0.24 ±0.04 e	0.03 ±0.01 d	0.09 ±0.07 g	0.13 ±0.02 d	0.32 ±0.01 e	0.02 ±0.01 c	0.05 ±0.01 d
2	5 mM EDTA	0.50 ±0.13 f	0.68 ±0.10 e	0.02 ±0.01 d	0.04 ±0.01 g	0.13 ±0.03 d	0.22 ±0.02 e	0.03 ±0.01 c	0.03 ±0.001 d
2	10 mM CA	0.81 ±0.31 f	0.94 ±0.22 e	0.14 ±0.10 d	0.33 ±0.04 g	0.15 ±0.02 d	0.32 ±0.02 e	0.06 ±0.02 c	0.07 ±0.01 d
2	10 mM EGTA	0.21 ±0.05 f	0.39 ±0.01 e	0.03 ±0.01 d	0.09 ±0.01 g	0.12 ±0.01 d	0.30 ±0.01 e	0.02 ±0.01 c	0.05 ±0.01 d
2	10 mM EDTA	0.36 ±0.05 f	0.55 ±0.07 e	0.04 ±0.01 d	0.07 ±0.02 g	0.18 ±0.02 d	0.36 ±0.07 e	0.06 ±0.03 c	0.11 ±0.03 d

Values marked with different letters (a, b, c, etc.) for each element in relation to substrates and chelators are significantly different at $p < 0.05$ according to Tukey's HSD test (ANOVA).

lutions to the soil, creating larger pool of plant available elements. There were also substantial differences between plant species in REE accumulation in control and chelate treated substrates, with the order of accumulation ability being as follows: *D. erythrosora* > *T. pratense* > *A. millefolium*.

In addition, it was shown that the plants retained a greater amount of acquired REEs in roots than in the above-ground parts of plants. It was also noted that underground parts in most cases were characterized by a decrease in REE accumulation after adding chelators compared to the control.

Comparing the accumulated REE in above ground parts for substrate 1, the addition of EDTA at a concentration of 10 mM turned out to be the most effective additive for *A. millefolium* and *T. pratense*. The content of REEs increased in *A. millefolium* comparing to the control by 0.32 mg kg⁻¹, 1.42 mg kg⁻¹, 3.69 mg kg⁻¹ and 2.75 mg kg⁻¹ for La, Ce, Eu and Gd, respectively; and in *T. pratense* by 3.10 mg kg⁻¹ and Gd 7.73 mg kg⁻¹ for Eu and Gd, respectively. For Ce, 10 mM EGTA and 10 mM EDTA were the most effective, with an increase of 1.0 mg kg⁻¹ and 0.81 mg kg⁻¹, respectively

In turn, for REE accumulation in roots of *A. millefolium* and *T. pratense* the most effective addition was EGTA: 5 mM rate for *A. millefolium* and 10 mM for *T. pratense*. The REE content in *A. millefolium* underground parts increased compared to the control by 14.04, 15.75, 18.08 and 17.86 mg kg⁻¹ for La, Ce, Eu and Gd, respectively, after adding 5 mM EGTA to the soil. The dose of 10 mM EGTA stimulated increase in content of La, Ce, Eu and Gd in *T. pratense* by: 18.04, 19.09, 29.75, 4.06 mg kg⁻¹, respectively.

In the case of substrate 2, no significant differences in REE accumulation were observed compared to the control (Tables 5 and 6). Additionally, plants accumulated lower amounts of metals in substrate 2 compared to substrate 1.

Dryopteris erythrosora accumulated higher amounts of REE than the other two plant species. In the case of cultivation in substrate 1, the accumulation of La, Ce and Gd in the aboveground parts was most effectively stimulated by 10 mM CA (an increase of 14.81 mg kg⁻¹, 7.76 mg kg⁻¹ and 4.42 mg kg⁻¹ was observed for La, Ce and Gd, respectively, compared to the control). For Eu, the same effect was obtained using 5 mM, 10 mM of CA and EGTA.

Analyzing the REE content in the underground parts of *D. erythrosora* grown on medium 1, no significant increase in the accumulation of La and Gd was noted after adding chelates to the substrate. For Ce, a significant increase was noted after the use of 5 mM CA, 10 mM EGTA and 10 mM EDTA compared to the control (an increase of 9.96 mg kg⁻¹, 12.18 mg kg⁻¹, 11.41 mg kg⁻¹, respectively). On the other hand, for Eu, a significant increase was noted for *D. erythrosora* treated with 5 mM CA and 5 mM and 10 mM EDTA, an increase of 9.59, 10.15 and 8.79, respectively. For the underground parts, similarly to the other plants, no significant differences in REE accumulation were noted.

The translocation (TF) and bioconcentration (BCF) factors are shown in Figures 2 and 3. TF greater than 1 was obtained only for *D. erythrosora* and *A. millefolium*, when they were grown on substrate 2. The highest TF in the entire experiment was attributed to the application of CA at a concentration of 10 mM equal to 5.40 for La (*D. erythrosora*). The highest TF for Gd (4.71) for *D. erythrosora* was calculated for the same chelate at 10 mM rate. The application of 5 mM EDTA for *D. erythrosora* gave the highest TF for Ce (3.09) whereas 5 mM CA gave the highest value for Eu (4.00). In case of *A. millefolium* grown on substrate 2, TF = 1 was obtained only after adding 5 mM EDTA (1.00) for Gd and 10 mM CA (1.00) for Eu to the substrate (Figure 2).

There were very clear differences in TF values between the substrates tested and the plant species. For the substrate 2, TF values increased in the following order: *D. erythrosora* > *A. millefolium* > *T. pratense*. In case of substrate 1, the greatest TF values were reported for *D. erythrosora* whereas two other plant species in general had similar values (Figure 2).

BCF > 1 was not recorded in this experiment. The highest BCF index for La and also the highest in the experiment was obtained in substrate 1 for *D. erythrosora* after application of 10 mM CA (BCF = 0.28). For the same plant in substrate 1, the highest indexes were obtained for Ce, for which the BCF was 0.19 after application of 5 mM CA, 10 mM CA and 10 mM EDTA. On the other hand, the highest BCF = 0.22 was obtained for *T. pratense* for Eu (substrate 2) after application of 10 mM CA. The highest BCF index for Gd (BCF = 0.23) was obtained for *A. millefolium*, which was grown in substrate 1 with application of 5 mM EGTA (Figure 3).

DISCUSSION

High biomass growth or the ability of plants to accumulate higher concentrations of metals without toxic effects on the plant are the conditions that a plant must meet in order to be effective in phytoremediation or phytomining. When using phytoremediation techniques, it is important to ensure that the plant used is capable of creating a sufficient biomass. Plants that accumulate metals are harvested and then subjected to a pyrolysis to recover the metals. It has been proven that lanthanides (especially La and Ce) can stimulate the growth of certain plant species. For example, by promoting nitrogen metabolism and other metabolic pathways (He et al., 2022). In this experiment the largest amount of biomass was obtained for *T. pratense*. This plant is usually grown as a fodder plant due to its high biomass growth and high protein content. Higher biomass was collected for plants grown on substrate 1 compared to substrate 2. This could have been due to stimulation of growth after prior adding REE in easily soluble form and overall better growth conditions than present in substrate 2 (Grčman et al., 2001).

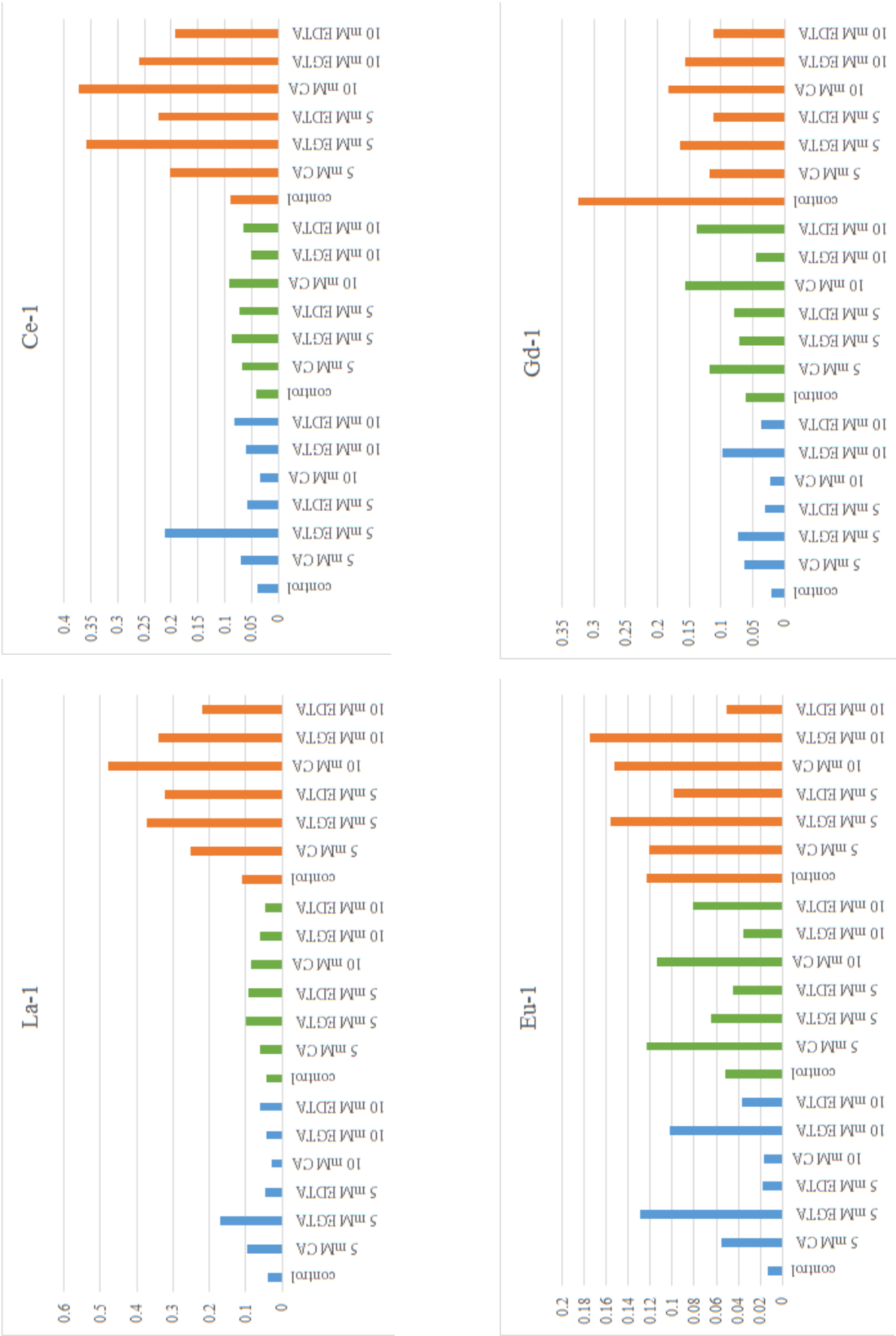


Figure 2

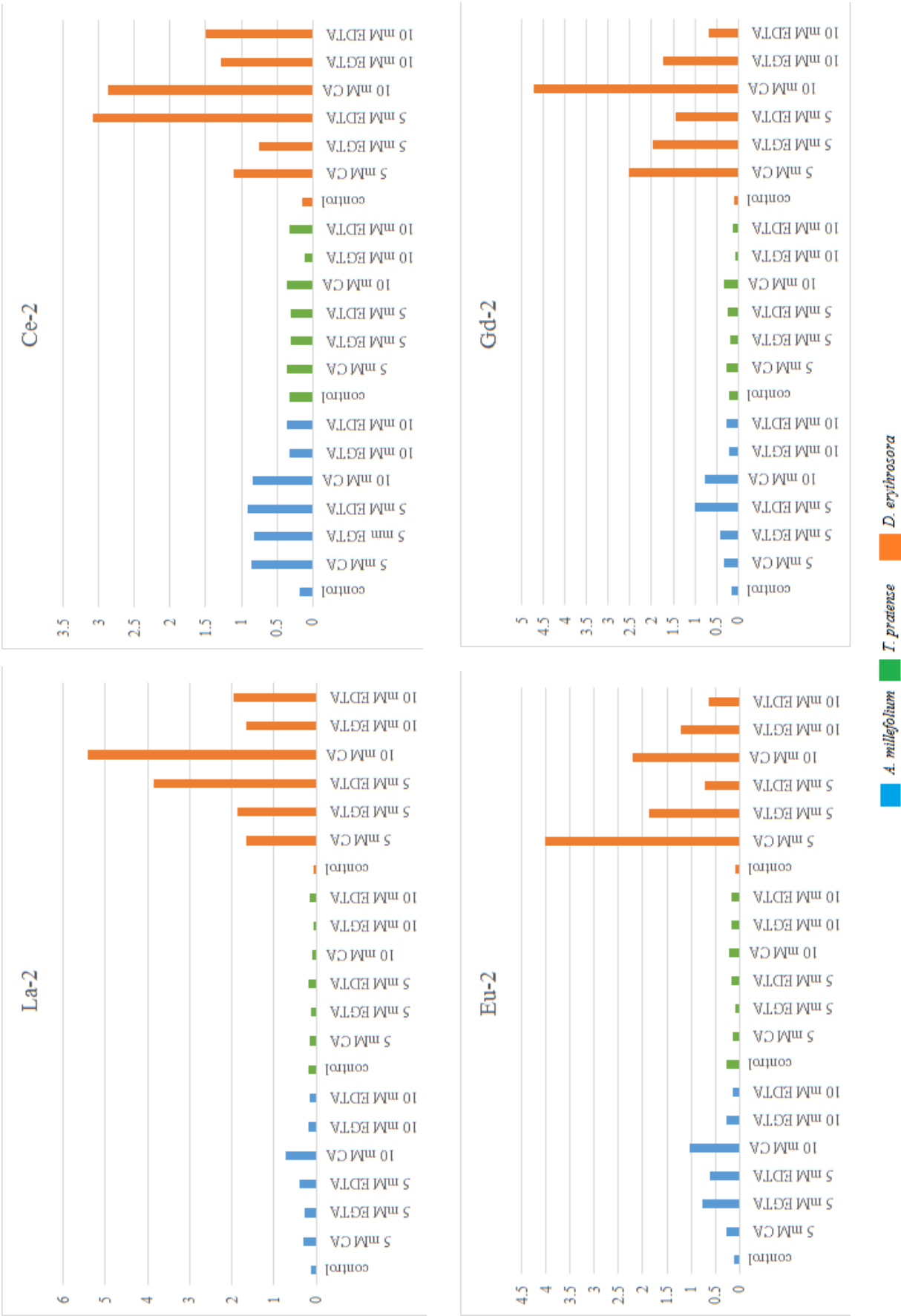


Figure 2. Translocation factor for La, Ce, Eu and Gd for *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* and *Dryopteris erythrosora* in two substrates. The substrates used were as follows: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% ash from a power plant, 20% compost, 50% peat). The markings show TF for: La-1, Ce-1, Eu-1, Gd-1 – REE in substrate 1, La-2, Ce-2, Eu-2, Gd-2 – REE in substrate 2.

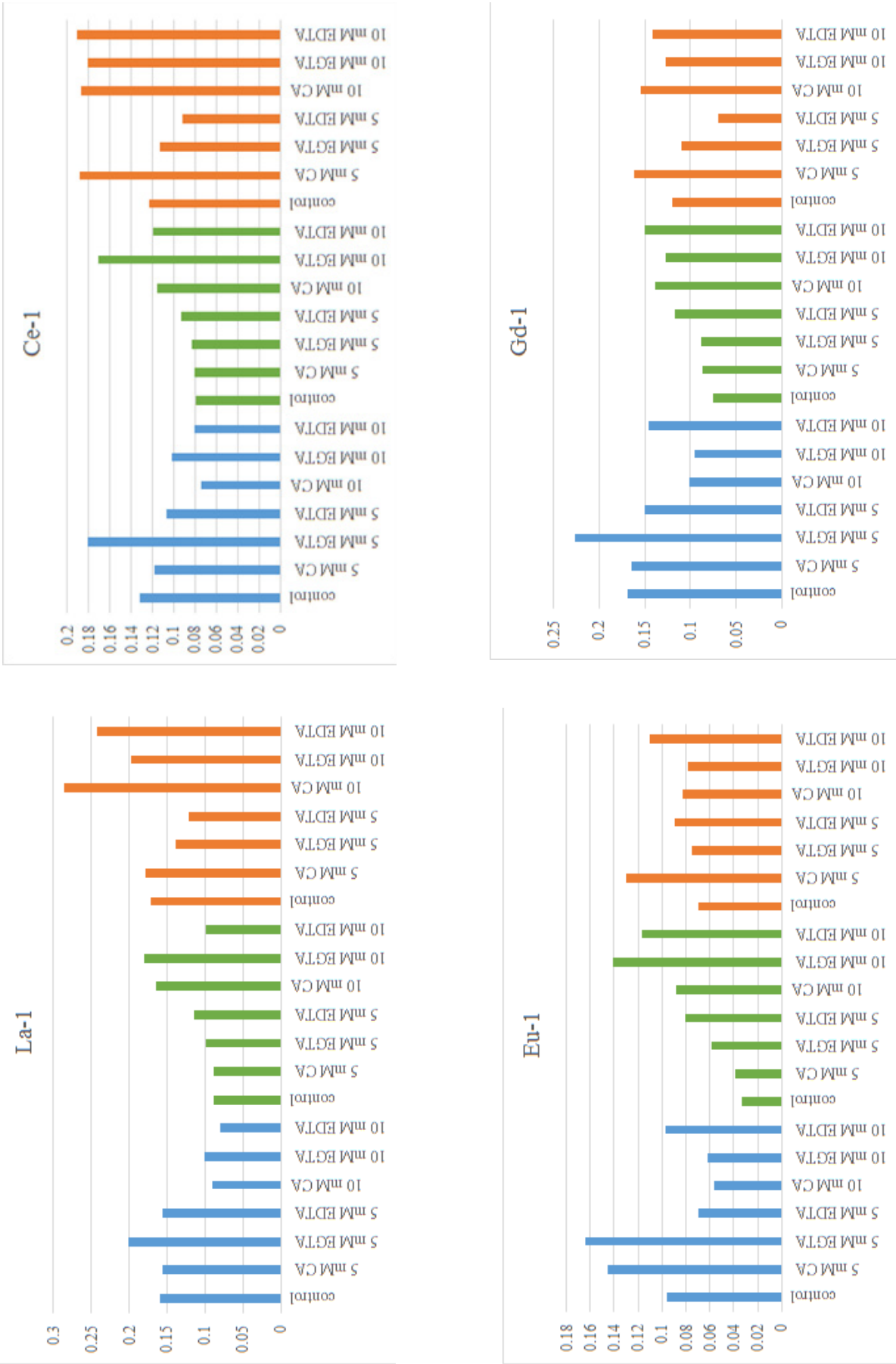


Figure 3

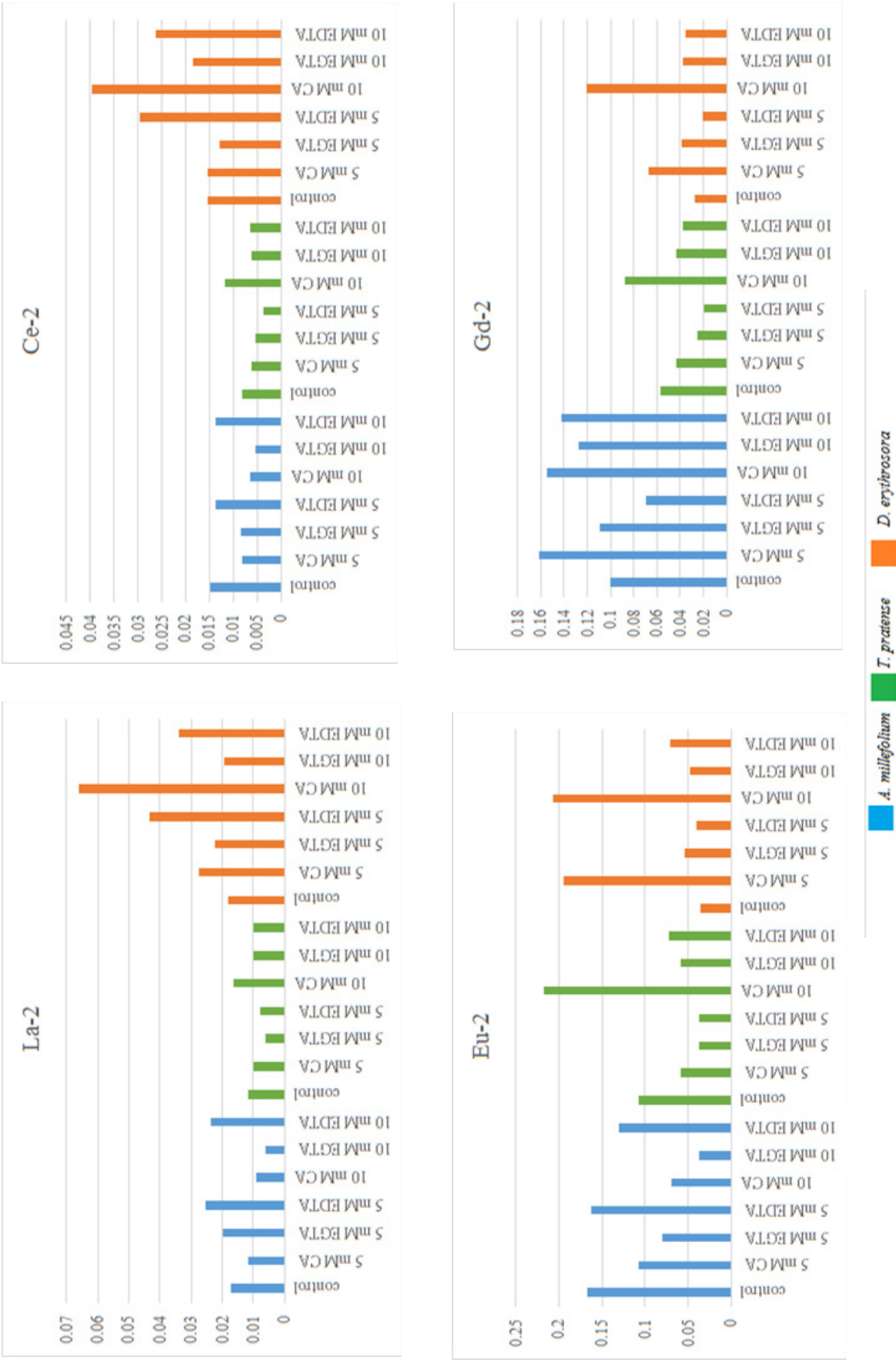


Figure 3. Bioconcentration factor for La, Ce, Eu and Gd for *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* and *Dryopteris erythrosora* in two substrates. The substrates used were as follows: substrate 1 (95% soil, 5% compost), substrate 2 (30% ash from a power plant, 20% compost, 50% peat). The markings show BCF for: La-1, Ce-1, Eu-1, Gd-1 – REE in substrate 1, La-2, Ce-2, Eu-2, Gd-2 –REE in substrate 2.

Evaluating direct effects of the applied chelates on plant growth, it is difficult to draw general conclusions. The effects were rather plant specific. Literature search provides ambiguous information on EDTA impact on plant growth since both toxic and protective effects have been reported (Saleem et al. 2020). Our data suggests that the doses of chelates applied (5 and 10 mM) are in general not harmful to the tested plant species, however the sensitivity of plants can be diverse.

Soil pH directly affects plant development by determining the availability of nutrients and metal toxicity to plants. Adequate availability of macronutrients for plants occurs in the range of pH 6-7 (Remigio et al., 2020). In the experiment, the pH of the substrates ranged from 5.5 to 7.6. In the studies conducted by Cao et al. (2001) it was shown that the release of La, Ce and Gd gradually increases with decreasing pH.

In accordance with this theory, it was observed that plants accumulated higher amounts of REE in substrate 1, which contained a lower pH compared to substrate 2. Some plants prefer more acidic environments and may contribute to lower soil pH due to the release of organic acids into the substrate or through root exudates as observed in the case of the fern *D. erythrosora* (Shan et al. 2003).

Two substrates were used in the experiment: one consisting of soil (substrate 1) and the other whose main component was ash (substrate 2). Due to the global use of coal-based energy, environmental problems are increasing, including the creation of areas where fly ash (FA) landfills are located. FA waste disposal is characterized by a high degree of absorption of water, energy and land surface. It is also the cause of pollution associated with the atmosphere and water bodies. FA, compared to soil, has a lower water retention capacity, so it can cause water stress more quickly (Yadav et al., 2021).

This may result in slower plant growth and reduced biomass production. In this experiment, plants growing on substrate 2 had lower biomass compared to plants growing on substrate 1, however the differences can be of complex character, involving overall physical and chemical growth conditions, direct effects of chelates and chelate-driven availabilities of nutrients and micronutrients.

For substrate 1, the REE content in plant tissues ranged from 0.31 to 63.60 mg kg⁻¹, while for substrate 2, the REE ranged from 0.01 to 0.94 mg kg⁻¹. The determined REE content was higher in substrate 1 than in substrate 2.

There were substantial differences between levels of REE in aboveground and underground parts between the substrate 1 and substrate 2. Addition of REE salts have created much larger pool of plant available REE in soil. It is commonly observed that elements added to soil as salts or salt solutions are in short-term much more easily absorbed by plants as those present in soil minerals or sorbed by soil components (Dong et al., 2021). Both in control and chelate treated substrates the greatest ability to bioaccumulate REE showed *T. pretense*.

Most of the REEs were accumulated in underground parts and not transferred further to above ground parts. According to Ramos et al. (2016). This is because REEs absorbed by roots encounter an apoplastic barrier on their way to the xylem. This results in difficulties during the translocation of lanthanides to other plant organs. As a result, the order of REE accumulation in plant tissues is as follows: roots >stems >leaves >flowers >fruits >seeds. Similarly, in the study of Lihong et al. (1999) showed that the application of EDTA increased REE bioaccumulation in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings, metal both in roots and tops (stem and leaves). However, still higher REE content was measured in roots than in tops. It is assumed that in the chemically assisted phytoremediation method by adding chelating substances the content of metals taken up by the plant increases. In this study, the use of chelators: CA, EGTA and EDTA had small influence of the studied plants. In the studies of Ozaki et al. (2000) after the addition of chelating reagents: NTA, lactic acid and succinic acid to the medium containing Y, Ce, Pm, Eu, Gd, Lu and Yb content in *D. erythrosora* increased compared to the control. Nawaz et al. (2022) investigated the usefulness of *Brassica napus* in phytoremediation of Ni using two chelators: 10mM CA and 1.5 mM EDTA. The studies showed greater metal accumulation by EDTA-treated plants as compared to CA. Additionally, it was shown that the addition of chelators alleviated the toxic effects of Ni on canola. Other studies using chelating agents show that enrichment of soil with histidine, malic and citric acids increased the concentration of light REE in the natural REE hyperaccumulator *D. dichotoma* by 21-78%, as compared to the control (Shan et al., 2003).

Translocation factor (TF) is a parameter indicating the efficiency of a plant in transferring metals from roots to shoots. In order for a plant to be classified as most useful in phytomining techniques, the ratio of metal content in shoots to roots should be greater than 1. If TF is lower than 1, metal accumulation is predominant at the root level (Takarina, Pin, 2017).

In general, the effect of chelates on REE accumulation was plant-specific. *D. erythrosora* that accumulated more REE than other species, also differently responded to the chelates tested. Both in case of substrate 1 and 2. So independently on the level of soluble REE in a substrate, 10 mM CA stimulated REE accumulation most efficiently for this plant. This can be treated as a positive result due to lower potential toxicity of CA than that represented by EDTA or EGTA. In study Ibrahim (2023) examines how citric acid affects the phytoextraction capabilities of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) in soils contaminated with heavy metals. The application of citric acid significantly enhances plant growth, biomass, and the uptake of heavy metals, suggesting its potential as an effective agent in phytoremediation strategies.

The differences between plant species in TF values were greater than the differences between the chelates

used. Our TF data indicate that translocation from underground to aboveground parts for *D. erythrosora* exceeded the other species in this respect. The highest differences between *D. erythrosora* in terms of TF index values can be seen for substrate 1.

TF factor higher than 1 was obtained in the experiment only for two plant species: *D. erythrosora* and *A. millefolium* growing in substrate 2. The highest TF was obtained for *D. erythrosora* using 10 mM CA. It was proven that the REE concentration in soils and wastes depends on the parent substrate material. In order to determine the transfer of REE from the substrate to plants, the bioaccumulation factor (BAF) was calculated. In this experiment, no BCF > 1 was observed.

Different effects of chelates on REE bioconcentration index were observed for the plant species, which confirms differences in physiology of REE uptake and transport between those diverse plants. *D. erythrosora* responded with increased BCF for all elements to addition of 10 mM doses of CA, EDTA and EGTA. This indicates the potential for further enhancement of REE bioaccumulation by the fern through optimisation of chelate dosing and application strategy.

CONCLUSIONS

The results of the study showed that the addition of chelates can contribute to increased REE accumulation in plant tissues but to small extent. In addition, the use of plants in phytoremediation techniques is one of the limitations, because the uptake and accumulation of REE by plants depends on, among others, environmental factors or the plant species and its morphology. Therefore, it is necessary to search for suitable plants that will be able to accumulate REE in their above-ground parts and chelating compounds and their appropriate doses in order to enhance the bioaccumulation process.

From a practical point of view, *D. erythrosora* can be considered the most suitable species for use in chelate-assisted REE phytoextraction, despite the lowest total biomass than other plants tested. However, the significantly higher REE content in the aboveground parts and the highest REE translocation to the aboveground parts, expressed by the TF index, suggest that further process optimization should include this plant.

The fern positively responded to chelate addition with increased biomass. This observation combined with the recorded translocation factor above 1, characteristic for intensive transfer of REE from roots to shoots, indicates a potential for the REE bioaccumulation enhancement, as compared to that observed in our study. It seems that there is room for enhancing effectiveness of the entire process through optimisation of ash substrate chemical composition and optimal combination of chelates, substrates and plant species. We can assume that the assisted bioaccumulation process would be more efficient in case of ashes richer in

REE. It seems that further research shall focus on tailor-made combinations of chelates and ash substrate compositions (for example additions of organic or pH affecting materials to ashes) for specific characteristics of pre-selected ashes. Since various REE respond to chelates differently, further optimisation can be achieved by selecting optimal chelates and their doses depending on the chemical composition of the ash. TF of fern in many cases increased after chelate addition, therefore it can be assumed that certain modification of the substrate, for example lowering pH, in order to create better growth conditions and greater REE phytoavailability, would greatly enhance the REE amounts transferred from the growing media to plant tissues.

REFERENCES

- Adeel M., Lee J.Y., Zain M., Rizwan M., Nawab A., et al., 2019. Cryptic footprints of rare earth elements on natural resources and living organisms. *Environment International*, 127: 785-800, doi: 10.1016/j.envint.2019.03.022.
- Ali S.I., Gopalakrishnan B., Venkatesalu V., 2017. Phytotherapy Research pharmacognosy, phytochemistry and pharmacological properties of *Achillea millefolium* L.: a review. *Phytotherapy Research*, 31: 1140-1161, doi: 0.1002/ptr.5840.
- Beiyuan J., Fang L., Chen H., Li M., Liu D., Wang Y., 2021. Nitrogen of EDDS enhanced removal of potentially toxic elements and attenuated their oxidative stress in a phytoextraction process. *Environmental Pollution*, 268: 115719, doi: 10.1016/j.envpol.2020.115719.
- Cakaj A., Hanc A., Lisiak-Zielińska M., Borowiak K., Drapikowska M., 2023. *Trifolium pratense* and the heavy metal content in various urban areas. *Sustainability*, 15(9): 7325, doi: 10.3390/su15097325.
- Cao X., Chen Y., Wang X., Deng X. 2001. Effects of redox potential and pH value on the release of rare earth elements from soil. *Chemosphere*, 44(4): 655-661, doi: 10.1016/S0045-6535(00)00492-6.
- Deepika, Haritash A.K., 2023. Phytoremediation potential of ornamental plants for heavy metal removal from contaminated soil: a critical review. *Horticulture, environment, and biotechnology*, 64: 709-734, doi: 10.1007/s13580-023-00518-x.
- Dinh T., Dobo Z., Kovacs H., 2022. Phytomining of rare earth elements – A review. *Chemosphere*, 297: 134259, doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.134259.
- Dluhosova J., Istvanek J., Nedelnik J., Repkova J., 2018. Red clover (*Trifolium pratense*) and Zigzag clover (*T. Medium*) - A Picture of genomic similarities and differences. *Frontier Plants Science*, 9: 724, doi: 10.3389/fpls.2018.00724.
- Dong Q., Liu Y., Liu G., Guo Y., Yang Q., et al., 2021. Aging and phytoavailability of newly introduced and legacy cadmium in paddy soil and their bioaccessibility in rice grain distinguished by enriched isotope tracing. *Journal of Hazardous Materials*, 417: 125998, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125998.
- Grcman H., Velikonja-Bolta S., Vodnik D., Kos B., Leštan D., 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. *Plant and Soil*, 235: 105-114.
- He E., Peijnenburg W.J.G.M., Qiu H., 2022. Photosynthetic, antioxidative, and metabolic adjustments of a crop plant to elevated levels of La and Ce exposure. *Ecotoxicology*

- and Environmental Safety, 242: 113922, doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113922.
- Ibrahim E.A., 2023.** Effect of citric acid on phytoextraction potential of *Cucurbita pepo*, *Legenaria siceraria*, and *Raphanus sativus* plants exposed to multi-metal stress. Scientific Reports, 13: 13070, doi: 10.1038/s41598-023-40233-2.
- Lihong Y., Xiaorong W., Hao S., Haishi Z., 1999.** The effect of EDTA on rare earth elements bioavailability in soil system. Chemosphere, 38 (12): 2825-2833, doi: 10.1016/S0045-6535(98)00496-2.
- Lima A. T., Ottosen L., 2021.** Recovering rare earth elements from contaminated soils: Critical overview of current remediation technologies. Chemosphere, 265: 129163, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.129163.
- Mohrazi A., Ghasemi-Fasaei R., Mojiri A., Shirazi S.S., 2023.** Investigating electro-bio-chemical phytoremediation of multi-metal polluted soil by maize and sunflower using RSM-based optimization methodology. Environmental and Experimental Botany, 211: 105352, doi: 10.1016/j.envexpbot.2023.105352.
- Nawaz H., Ali A., Saleem M. H., Ameer A., Hafeez A., Alharbi K., Ezzat A., Khan A., Jamil M., Farid G. 2022.** Comparative effectiveness of EDTA and citric acid assisted phytoremediation of NI contaminated soil by using canola (*Brassica napus*). Brazilian Journal of Biology, 82: 1 -9, doi: 10.1590/1519-6984.261785.
- Ozaki T., Enomoto S., Minai Y., Ambe A., Ambe F., Makide Y., 2000.** Beneficial effect of rare earth elements on the growth of *Dryopteris erythrosora*. Journal of Plant Physiology, 156(3): 330-334, doi: 10.1016/S0176-1617(00)80070-X.
- Poursattari T., Hadi H., 2022.** Lead phytoremediation, distribution, and toxicity in Rapeseed (*Brassica napus* L.): the role of single and combined use of plant growth regulators and chelators. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 22: 1700-1717, doi: 10.1007/s42729-022-00765-4.
- Rabbani M., Rabbani M.T., Muthoni F., Sun Y., Vahidi E., 2024.** Advancing phytomining: Harnessing plant potential for sustainable rare earth element extraction. Bioresource technology, 401: 130751, doi: 10.1016/j.biortech.2024.130751.
- Ramos S.J., Dinali G.S., Oliveira C., Martins G.C., Moreira C.G., et al., 2016.** Rare earth elements i the soil environment. Currently Pollution Report, 2: 28-50, doi: 10.1007/s40726-016-0026-4.
- Remigio A.C., Chaney R.L., Baker A.J., Edraki M., Edraki M., Erskine P.D., Echevarria G., van der Ent A., 2020.** Phytoextraction of high value elements and contaminants from mining and mineral wastes: opportunities and limitations. Plant and Soil, 449(9): 11-37, doi: 10.1007/s11104-020-04487-3.
- Saleem M.H., Ali S., Kamran M., Iqbal N., Azeem M., et al., 2020.** Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) mitigates the toxic effect of excessive copper concentrations on growth, gaseous exchange and chloroplast ultrastructure of *Corchorus capsularis* L. and improves copper accumulation capabilities. Plants (Basel), 9(6): 756, doi: 10.3390/plants9060756.
- Salifu M., John M.A., Abubakar M., Bankole I.A., Ajayi N.A., Amusan O., 2024.** Phytoremediation strategies for heavy metal contamination: a review on sustainable approach for environmental restoration. Journal of environmental protection, 15(4): 450-474, doi: 10.4236/jep.2024.154026.
- Shan X., Wang H., Zhang S., Zhou H., Zheng Y., Yu H., Wen B., 2003.** Accumulation and uptake of light rare earth elements in a hyperaccumulator *Dicroptheris dichotoma*. Plant Science, 165: 1343-1353, doi: 10.1016/S0168-9452(03)00361-3.
- Syso A.I., Syromlya T.I., Myadelets M.A., Cherevko A.S., 2016.** Ecological and biogeochemical assessment of elemental and biochemical composition of the vegetation of anthropogenically disturbed ecosystems (based on the example of *Achillea millefolium* L.). Contemporary Problems of Ecology, 9: 643-651, doi: 10.1134/S1995425516050164.
- Takarina N.D., Pin D.G., 2017.** Bioconcentration Factor (BCF) and Translocation Factor (TF) of heavy metal Mangrove trees of Blankan Fish Farma. Makara Journal of Science, 21: 78-81, doi: 10.7454/mss.v21i2.7308.
- Tao Y., Shen L., Feng C., Yang R., Qu J., Ju H., Zhang Y., 2022.** Distribution of rare earth elements (REEs) and their roles in plant growth: A review. Environmental Pollution, 298: 118540, doi: 10.1016/j.envpol.2021.118540.
- Wu J., Chen A., Peng A., Wei Z., Liu G., 2013.** Identification and application of amino acids as chelators in phytoremediation of rare earth elements lanthanum and yttrium. Plant and Soil, 373: 329-338, doi: 10.1007/s11104-013-1811-0.
- Yadav S., Pandey V. C., Singh L., 2021.** Ecological restoration of fly-ash disposal areas: Challenges and opportunities. LDD, Land degradation & development, 32(16): 4453-4471, doi: 10.1002/ldr.4064.
- Yin X., Martineau C., Demers I., Basiliko N., Fenton N.J., 2021.** The potential environmental risks associated with the development of rare earth element production in Canada. Environmental Risks, 29(3): 354-377, doi: 10.1139/er-2020-0115.
- Yoo G., Park S., Yang H., Nguyen X. N., Kim N., et al., 2017.** Two New Phenolic Glycosides from the Aerial Part of *Dryopteris erythrosora*. Pharmacognosy Magasine, 13(52): 673-676, doi: 10.4103/pm.pm_326_16.
- Zhang H., Zhang K., Duan Y., Sun X., Lin L., et al., 2024.** Effect of EDDS on the rhizosphere ecology and microbial regulation of the Cd-Cr contaminated soil remediation using king grass combined with *Piriformospora indica*. Journal of Hazardous Materials, 465: 133266, doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.133266.
- Zhou Y., Tian Y., Ollennu-Chuasam P., Kortensniemi M., Selander K., et al., 2024.** Compositional characteristics of red clover (*Trifolium pratense*) seeds and supercritical CO2 extracted seed oil as potential sources of bioactive compounds. Food Innovation and Advances, 3(1): 11-19, doi: 10.48130/fia-0024-0002.
- Zulkernain N.H., Uvarajan T., Ng C.C., 2023.** Roles and significance of chelating agents for potentially toxic elements (PTEs) phytoremediation in soil: A review. Journal of Environmental Management, 341: 117926.

Author	ORCID	
Dominika Gmur	0000-0003-4061-1474	received 14 February 2025
Grzegorz Siebielec	0000-0001-8089-6123	reviewed 16 February 2025
Monika Pecio	0009-0005-8355-8310	accepted 24 February 2025
		Authors declare no conflict of interest.

The work was carried out as part of the project of the National Science Center OPUS, project number 2019/35 / B / ST10 / 03244. „Study of the environmental effects of the occurrence of rare earth elements, antimony and vanadium in soils and waste”.

11. OŚWIADCZENIA AUTORA I PROMOTORA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Dominika Gmur

Zakład Gleboznawstwa i Analiz Środowiskowych

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa –

Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

ul. Czartoryskich 8,

24-100 Puławy

Oświadczenie autora rozprawy doktorskiej

Świadom odpowiedzialności prawnej oświadczam, że rozprawa doktorska przygotowana przeze mnie nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami. Oświadczam również, że przedstawiona rozprawa nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego w wyższej uczelni lub innej uprawnionej instytucji naukowej.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja rozprawy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Data. 26.02.2025

Dominika Gmur

(podpis autora pracy)

dr. hab. Grzegorz Siebielec, prof. IUNG – PIB

Zakład Gleboznawstwa i Analiz Środowiskowych

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa –

Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

ul. Czartoryskich 8,

24-100 Puławy

Oświadczenie promotora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że niniejsza praca doktorska została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora nauk rolniczych.

Data...26.02.2025


.....
(podpis promotora pracy)