

XXIX OGÓLNOPOLSKI ZJAZD
POLSKIEGO TOWARZYSTWA
MIKROBIOLOGÓW
15-17 WRZEŚNIA 2022,
WARSZAWA



XXIX OGÓLNOPOLSKI ZJAZD POLSKIEGO TOWARZYSTWA MIKROBIOLOGÓW

15-17 WRZEŚNIA 2022,
WARSZAWA



SESJA 2

Mikrobiologia środowiska naturalnego
i przemysłowego, bioróżnorodność
i bioremediacja, biotechnologia

Komitety naukowy:

prof. dr hab. Ewa Augustynowicz-Kopeć – przewodniczący

prof. dr hab. Stefan Tyski – wiceprzewodniczący

dr Anna Zabost – sekretarz

prof. dr hab. Jacek Bielecki – członek

prof. dr hab. Gabriela Bugla-Płoskońska – członek

prof. dr hab. inż. Katarzyna Czaczyk – członek

prof. dr hab. Alicja Ekiel – członek

prof. dr hab. Beata Gutarowska – członek

prof. dr hab. Beata Krawczyk – członek

prof. dr hab. Łucja Łaniewska-Trokenheim – członek

prof. dr hab. Wanda Małek – członek

prof. dr hab. Jacek Międzobrodzki – członek

prof. dr hab. Beata Sadowska – członek

prof. dr hab. Elżbieta A. Trafny – członek

dr hab. Wioletta Adamus-Białek – członek

dr hab. Tomasz Jagielski – członek

dr hab. Jolanta Karakulska – członek

dr hab. Agnieszka E. Laudy – członek

dr Anna Białecka – członek

dr Tamara Daniluk – członek

dr Joanna Jursa-Kulesza – członek

dr Alicja Sękowska – członek

dr Mariusz Worek – członek

Komitet organizacyjny:

prof. dr hab. Stefan Tyski – przewodniczący

prof. dr hab. Ewa Augustynowicz-Kopeć – wiceprzewodnicząca

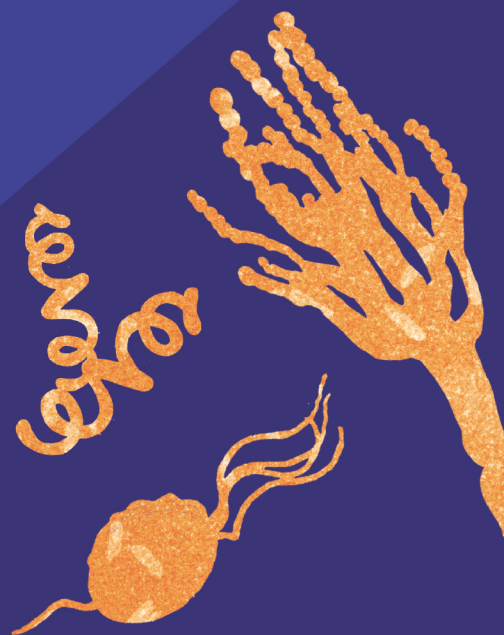
dr hab. Agnieszka E. Laudy – sekretarz

prof. dr hab. Elżbieta A. Trafny – członek

dr hab. Katarzyna Pancer – członek

dr hab. Edyta Podsiadły – członek

dr Anna Zabost – członek



Organizator merytoryczny:



Biuro Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów

ul. Banacha 1 b

02-097 Warszawa

WUM Budynek CePT

tel. 22 116 61 77 lub 76

e-mail: ptm.zmf@wum.edu.pl

Organizator logistyczny:



Medicare S.C.

ul. Fiołkowa 54

05-123 Chotomów

tel: 888 906 323

tel: 608 517 740

e-mail: biuro@medicare.waw.pl

Sponsorzy instytucjonalni:



Ministerstwo
Edukacji i Nauki

Dofinansowano z programu „Dokonała nauka”

Ministra Edukacji i Nauki.

Umowa Nr DNK/SP/463237/2020



Federation of European
Microbiological Societies



ISME
International Society
of Microbial Ecology

Sponsor Główny Zjazdu:



Sponsorzy:



BD



BERLIN-CHEMIE
MENARINI

DiaSorin



PALL CORPORATION

Wystawcy:



ARGENTA

BIOMAXIMA

BIOMEDICA

BISAF
Be safe! www.BISAF.pl



ECOLAB

EUROIMMUN
a PerkinElmer company



POLSKA

GRASO
BIOTECH

IMOGENA
Diagnostyka molekularna

INFEBIO

ATCC

LGC

MEDAN



Perlan
a member of Altium Group

ThermoFisher
SCIENTIFIC
The world leader in serving science

TZf



Roche

SMS

sterBios

Patronat medialny:

Laboratorium
PRZEGŁĄD OGÓLNOPOLSKI



Warsaw
Convention
Bureau



WYDAWNICTWO
UNIwersytetu
ŁÓDZKIEGO

Spis treści:

Wykłady:..... 8

NOWE ROZWIĄZANIA BIOTECHNOLOGICZNE DLA ROZWOJU ZRÓWNOWAŻONYCH STRATEGII UPRAWY ROŚLIN, Z UWZGLĘDNIENIEM DIAGNOSTYKI, ZWALCZANIA I MONITORINGU KLUCZOWYCH FITOPATOGENÓW prof. dr hab. Magdalena Frąć.....	9
MIKROORGANIZMY ZIMNOLUBNE – ŹRÓDŁO UNIKATOWYCH I CENNYCH DLA PRZEMYSŁU BIOMOLEKUŁ dr hab. inż. Aneta Białkowska	11
BAKTERIE ANAMMOX – WYJĄTKOWY GRACZ W BIOLOGICZNYCH ROZGRYWKACH USUWANIA AZOTU ŚCIEKÓW dr hab. Aleksandra Ziemińska-Buczyńska.	12

Komunikaty ustne: 13

NANOMATERIAŁY JAKO REGULATOR METABOLIZMU PIERWOTNEGO I WTÓRNEGO <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	13
ANTYBIOTYKOOPORNE BAKTERIE W POWIETRZU OKOLIC MIEJSKIEJ OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW	15
ZASTOSOWANIE SZCZEPIONKI MIKROBIOLOGICZNEJ W DEGRADACJI NIESTEROIDOWYCH LEKÓW PRZECWZAPALNYCH.....	16
CHARAKTERYSTYKA IZOLATÓW BAKTERYJNYCH Z RÓŻNYCH ŚRODOWISK WYKAZUJĄCYCH CECHY PROMUJĄCE WZROST ROŚLIN O ZRÓŻNICOWANEJ TOLERANCJI NA WYBRANE STRESY ABIOTYCZNE	17
WPŁYW HERBICYDOWYCH CIECZY JONOWYCH NA ZMIANY MIKROBIOMU GLEB UPRAWNYCH	18

Plakaty:..... 19

CZY SYMULOWANA POWÓDŹ POWODUJE WZROST BAKTERII PATOGENNYCH W ZALANYCH GLEBACH?	19
WPŁYW OPORNEJ DEKSTRYNY NA MARKERY ODDZIAŁYWANIA ZDROWOTNEGO	20
TRICHODERMA SPP JAKO ANTAGONISTA FITOPATOGENÓW GRZYBOWYCH I CZYNNIK BIODEGRADACJI CELULOZY	21
GRONKOWCE WCHODZĄCE W SKŁAD MIKROBIOTY SKÓRY <i>COLUMBA LIVIA DOMESTICA</i>	22
<i>PLURALIBACTER GERGOVIAE</i> – NOWE MIKROBIOLOGICZNE ZAGROŻENIE W KOSMETYKACH	23
BAKTERIE BIOFILMOTWÓRCZE ŚRODOWISKA PRODUKCJI CUKRU I SPOSOBY ICH ELIMINACJI	24
GRONKOWCE WCHODZĄCE W SKŁAD MIKROBIOTY SKÓRY KÓŻ	25

KRZYŻAK BURSZTYNOWY <i>LARINIOIDES PATAGIATUS</i> (ARANEAE: ARANEIDAE) REZERWUAREM BAKTERII <i>SERRATIA LIQUEFACIENS</i>	26
PRZYDATNOŚĆ FARMAKOPEALNEJ METODY BADANIA CZYSTOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ KAPSULEK TWARDYCH Z LIMECYKLINĄ.....	27
OZONOWANIE JAKO WSTĘPNY ETAP TECHNOLOGII OCZYSZCZANIA ŚCIEKÓW POCHODZĄCYCH Z PRZEMYSŁU KOSMETYCZNEGO	28
BADANIE WPŁYWU PREPARATÓW BIOLOGICZNYCH NA AKTYWNOŚĆ METABOLICZNĄ MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH W GLEBIE ROLNICZEJ	29
DŁUGOTERMINOWE PRZEŻYCIE BAKTERII ZLIOFILIZOWANYCH W LATACH 1968-2017 NA PRZYKŁADZIE ZASOBÓW POLSKIEJ KOLEKCJI MIKROORGANIZMÓW	30
PRZECIWDROBNOUSTROJOWA AKTYWNOŚĆ EKSTRAKTÓW CO ₂ OTRZYMANYCH Z <i>GLECHOMA HEDERACEA</i>	31
NOWE GENOMY MIKROORGANIZMÓW HALOFILNYCH WYIZOLOWANYCH ZE ŹRÓDEŁ SOLANKOWYCH W POŁUDNIOWEJ POLSCE	32
IDENTYFIKACJA SZCZEPÓW <i>PROTOTHECA</i> IZOLOWANYCH OD KRÓW MLECZNYCH I ZE ŚRODOWISKA ICH BYTOWANIA NA TERENIE POLSKI	33
INTEGRONY OPORNOŚCI PAŁECZEK <i>ENTEROBACTEREALES</i> WYHODOWANYCH Z PRÓBEK POBRANYCH OD PISKŁAT, Z POWIERZCHNI JAJ I GNIAZD BOCIANA BIAŁEGO Z TERENU POLSKI I HISZPANII	34
EKSPRESJA WYBRANYCH GENÓW U BAKTERII Z RODZAJU <i>SERRATIA</i> I <i>PSEUDOMONAS</i> W OBECNOŚCI GRZYBOWYCH FITOPATOGENÓW	35
POTENCJAŁ PROBIOTYCZNY BAKTERII <i>PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS</i> WYIZOLOWANYCH Z ODCHODÓW PROSIĄT SSĄCYCH	36
OPRACOWANIE BIONAWOZÓW PRZEZNACZONYCH DO POPRAWY JAKOŚCI BIOLOGICZNEJ GLEB ...	37
STRATEGIA OPRACOWANIA BIOKOMPONENTÓW OPARTYCH O BAKTERYJNE METABOLITY, ZNAJDUJĄCYCH ZASTOSOWANIE W PRODUKCJI NOWATORSKICH BIONAWOZÓW.	38
SYNTEZA FITOHORMONÓW (IAA I GA) ORAZ AKTYWNOŚĆ DEAMINAZY ACC W HODOWLACH SZCZEPÓW <i>TRICHODERMA</i> SPP. WYIZOLOWANYCH Z RYZOSFER RÓŻNYCH ROŚLIN	40
CECHY GRZYBÓW <i>ASPERGILLUS (PHIALOSIMPLEX) SALINARUS</i> , WYIZOLOWANYCH Z POWIETRZA KOPALNI SOLI BOCHNIA	41
IZOLACJA I ANALIZA LEKOOPORNYCH PAŁECZEK GRAM-UJEMNYCH BYTUJĄCYCH W WARSZAWSKICH JEZIORACH.....	42
BIORÓŻNORODNOŚĆ I POTENCJAŁ BIOTECHNOLOGICZNY DROŻDŻY WYIZOLOWANYCH Z PRÓB WODY Z MORZA BAŁTYCKIEGO	43
OPTIMALIZACJA PROCESU PRODUKCJI PIOCYJANINY Z WYKORZYSTANIEM NANOCZĄSTEK TLENKU CYNKU	44
IDENTYFIKACJA I CHARAKTERYSTYKA RHIZOBIOFAGOWEJ DEPOLIMERAZY EGZOPOLISACHARYDU..	45

DYNAMIKA I ZŁOŻONOŚĆ WSPÓLNOT MIKROORGANIZMÓW PRODUKUJĄCYCH BIOWODÓR I BIOMETAN W UKŁADZIE DWUSTOPNIOWYM	46
IZOLACJA SZCZEPÓW WIELOLEKOOPORNYCH W OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW SWS SWARZEWO	48
WPŁYW INTENSYWNOŚCI MIESZANIA I TEMPERATURY NA PRODUKCJĘ RAMNOLIPIDÓW WYTWARZANYCH PRZEZ <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	49
IDENTYFIKACJA I CHARAKTERYSTYKA FAGÓW SPECYFICZNYCH DLA <i>RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM</i> BV. <i>TRIFOLII</i>	50
MONITOROWANIE BIOAUGMENTOWANYCH KULTUR MIESZANYCH PRODUKUJĄCYCH KRÓTKO I ŚREDNIOŁAŃCUCHOWE KWASY TŁUSZCZOWE Z GLIEROLU	51
AKTYWNOŚĆ METABOLICZNA GLEBOWYCH ZBIOROWISK MIKROORGANIZMÓW- WPŁYW GŁĘBOKOŚCI I PROCESÓW GLEBOTWÓRCZYCH	52
WPŁYW STOSOWANIA BIOPREPARATU NATURALIZACYJNEGO NA RÓŻNORODNOŚĆ FUNKCJONALNĄ MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH NA EKOLOGICZNEJ PLANTACJI MALIN	53
NOWE ROZWIĄZANIA BIOTECHNOLOGICZNE W DIAGNOSTYCE I ZWALCZANIU <i>PEZICULA</i> spp. PATOGENÓW GRZYBOWYCH JABŁEK. ZAŁOŻENIA PROJEKTU LIDER APPAT(f)REE	54
KWASOWOŚĆ I SŁODYCZ: WŁAŚCIWOŚCI ŻYWNOŚCI I ICH ROLA W KONTROLOWANIU CZYNNIKA POWODUJĄCEGO PSUCIE, GRZYBA <i>ASPERGILLUS</i> SP. (POSTAĆ TELEOMORFICZNA: <i>NEOSARTORYA</i> SP.)	55
ANALIZA SIECI POWIĄZAŃ BAKTERII W ZDROWYCH I CHORYCH PRÓBKACH EKOLOGICZNEJ TRUSKAWKI	56
WPŁYW NAWOZÓW MINERALNYCH WZBOGACONYCH MIKROBIOLOGICZNIE NA OBFITOŚĆ GENÓW BIORĄCYCH UDZIAŁ W OBIEGU AZOTU	57
PRODUKCJA PHA PRZEZ MIESZANE KULTURY METANOTROFICZNE	58
ANALIZA METAGENOMOWA MIKROBIOMU BOROWIN STOSOWANYCH W LECZNICTWIE UZDROWISKOWYM	59
PROFIL AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ METABOLITÓW WTÓRNYCH WYTWARZANYCH PRZEZ NOWY GATUNEK PROMIENIOWCA Z RODZAJU <i>STREPTOMYCES</i>	60
CHARAKTERYSTYKA TAKSONOMICZNA NOWEGO GATUNKU PROMIENIOWCA Z RODZAJU <i>STREPTOMYCES</i>	61
E-plakaty:.....	62
ZDOLNOŚĆ WYBRANYCH SZCZEPÓW WYIZOLOWANYCH Z SKŁADOWISKA ODPADÓW NIEBEZPIECZNYCH W ZGIERZU DO WZROSTU W OBECNOŚCI ODCIEKÓW I ICH MOŻLIWEJ DETOKSYKACJI	62
ZMIANY W PROFILU LIPIDOWYM SZCZEPU <i>PSEUDOMONAS</i> SP. L1 WYWOŁANE RÓŻNYMI WARUNKAMI HODOWLI	64
PORÓWNANIE BEZPIECZEŃSTWA MIKROBIOLOGICZNEGO W KARMACH SUCHYCH DLA KOTÓW PO OTWARCIU ORAZ PO 45 DNIACH PRZECHOWYWANIA	65

CUKROWNIA JAKO ATRAKCYJNA LOKALIZACJA INNOWACYJNYCH TECHNOLOGII ENERGII ODNAWIALNEJ	66
AKTYWNOŚĆ ABAMEKTYNY <i>STREPTOMYCES AVERMITILIS</i> DLA ROŚLINOŻERNYCH GĄSIENIC <i>SPODOPTERA EXIGUA</i>	67
OCENA ZDOLNOŚCI PROMOCJI KIEŁKOWANIA NASION MARCHWI ZWYCZAJNEJ (<i>DAUCUS CAROTA</i> L.) PRZEZ RYZOBAKTERIE WYKAZUJĄCE ZDOLNOŚĆ DO SOLUBILIZACJI FOSFORU I SYNTEZY AMONIAKU	68
STRUKTURA ANTYGENU O-SWOISTEGO <i>AEROMONAS ENCHELEIA</i> A4 REPREZENTUJĄCEGO NOWĄ SEROGRUPĘ AEROMONADÓW PGO1, DOMINUJĄCĄ W POLSKIEJ AKWAKULTURZE	69
CZYNNIKI WIRULENCJI WIELOLEKOOPORNYCH SZCZEPÓW Z GATUNKU <i>ESCHERICHIA COLI</i> IZOLOWANYCH Z WÓD SŁODKICH	70
BIORÓŻNORODNOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA W POWIETRZU WOKÓŁ FARMY INTENSYWNEGO CHOWU DROBIU	71
BIOTRANSFORMACJA OLEJU NAPĘDOWEGO PRZEZ DROBNOUSTROJE IZOLOWANE ZE ZŁÓŻ WĘGLA BRUNATNEGO	72
CHARAKTERYSTYKA REZYSTOMU WODY I PIASKU NADBRZEŻA MORZA BAŁTYCKIEGO	73
CZY TELEFONY KOMÓRKOWE PACJENTÓW HOSPITALIZOWANYCH SĄ WEKTOREM TRANSMISJI DROBNOUSTROJÓW?	74
ZMIENNOŚĆ STRUKTURY ZBIOROWISK GRZYBÓW W ZDEGRADOWANEJ GLEBIE NAWOŻONEJ BIONAWOZEM FOSFOROWYM	75
BIODEGRADACJA POLIMERÓW PLA PRZEZ MEZOFILNE BAKTERIE	76
BIODEGRADACJA ZIELENI MALACHITOWEJ PRZEZ <i>PSEUDOMONAS</i> SP. 16A1	77
LIPIDY BŁON PĘCHERZYKÓW WIELOLAMELLARNYCH UWALNIANYCH DO ŚRODOWISKA PRZEZ <i>ACANTHAMOEBA CASTELLANII</i>	78

Wykłady:

**NOWE ROZWIĄZANIA BIOTECHNOLOGICZNE DLA ROZWOJU
ZRÓWNOWAŻONYCH STRATEGII UPRAWY ROŚLIN,
Z UWZGLĘDNIENIEM DIAGNOSTYKI, ZWALCZANIA
I MONITORINGU KLUCZOWYCH FITOPATOGENÓW**

prof. dr hab. Magdalena Frąc

**MIKROORGANIZMY ZIMNOLUBNE – ŹRÓDŁO UNIKATOWYCH
I CENNYCH DLA PRZEMYSŁU BIOMOLEKUŁ**

dr hab. inż. Aneta Białkowska

**BAKTERIE ANAMMOX – WYJĄTKOWY GRACZ
W BIOLOGICZNYCH ROZGRYWKACH USUWANIA AZOTU
ŚCIEKÓW.**

dr hab. Aleksandra Ziemińska-Buczyńska

NOWE ROZWIĄZANIA BIOTECHNOLOGICZNE DLA ROZWOJU ZRÓWNOWAŻONYCH STRATEGII UPRAWY ROŚLIN, Z UWZGLĘDNIENIEM DIAGNOSTYKI, ZWALCZANIA I MONITORINGU KLUCZOWYCH FITOPATOGENÓW

Magdalena Frąć

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290
Lublin, Polska

E-mail: m.frac@ipan.lublin.pl

Najnowsza diagnoza stanu środowiska rolniczego przedstawiona w raporcie dotyczącym rolnictwa regeneracyjnego¹ wskazuje na konieczność odbudowy bioróżnorodności oraz przywrócenia zdrowia glebom, w tym zwiększenia ich zdolności do sekwestracji węgla w celu łagodzenia zmian klimatycznych. Chociaż wiedza o glebach powiększyła się istotnie w ciągu ostatnich dziesięcioleci, to nadal istnieje potrzeba badań środowiska glebowego, zwłaszcza w kontekście zdrowia i bioróżnorodności mikroorganizmów. Ze względu na postępującą degradację gleb na całym świecie oraz zagrożenia dla jakości gleb i roślin, należy podkreślić ogromne znaczenie mikroorganizmów – bakterii i grzybów promujących wzrost i rozwój roślin, przy jednoczesnym zwiększaniu odporności roślin na biotyczne (patogeny) i abiotyczne (susza, światło, zasolenie, zakwaszenie) stresy środowiskowe. Jednym z ważniejszych czynników, które mogłyby wpłynąć na poprawę bioróżnorodności gleb i ich produktywność jest opracowanie i stosowanie nawozów biologicznych i biopreparatów na bazie mikroorganizmów, a także opracowanie metod detekcji kluczowych fitopatogenów. Ważnym wyzwaniem dla globalnego sektora żywnościowego oraz rolnictwa i ogrodnictwa jest zrozumienie czym są mikroorganizmy glebowe i roślinne, jako zintegrowana społeczność oraz jak ona funkcjonuje w środowisku, czyli wyjaśnienie funkcjonalnych aspektów bioróżnorodności gleby i roślin. Rozpoznanie mikrobiologicznej bioróżnorodności gleb i roślin w szerszym kontekście, z uwzględnieniem postrzegania ich jako metaorganizmu współistniejącego z mikroorganizmami, zwanego holobiontem, stanowi ważną problematykę badawczą dla rolnictwa i ogrodnictwa, będąc jedną z koncepcji obejmujących nowe rozwiązania biotechnologiczne dla rozwoju zrównoważonych strategii produkcji.

Biorąc pod uwagę powyższe wyzwania oraz założenia dokumentów strategicznych, do głównych zagadnień związanych z nowymi rozwiązaniami biotechnologicznymi dla zrównoważonych strategii uprawy roślin, z uwzględnieniem diagnostyki, zwalczania i monitoringu kluczowych fitopatogenów należą badania nad: I) bioróżnorodnością funkcjonalną i genetyczną mikroorganizmów glebowych, w tym poznaniem mikrobiomu gleby, roślin i odpadów; II) wykorzystaniem interakcji gleba-roślina-mikrobiom dla rozwoju zrównoważonych strategii hodowlanych i produkcyjnych; III) opracowaniem i/lub testowaniem nowych biopreparatów, biostymulatorów i (bio)nawozów dla rolnictwa zrównoważonego i ekologicznego oraz metod detekcji (m.in. PCR, qPCR, ddPCR, LAMP, NGS) patogenów roślin; IV) identyfikacją mikroorganizmów, ich różnorodnością fenotypową i interakcjami; V) wpływem związków chemicznych, ekstraktów roślinnych, konserwantów, metabolitów wtórnych czy postbiotyków na wzrost i metabolizm mikroorganizmów; VI) charakterystyką metaboliczną, morfologiczną i genetyczną mikroorganizmów fitopatogenicznych, w tym nienatywnych, pojawiających się w wyniku zmian klimatu,

grzybów termoopornych stanowiących mikrobiologiczne zanieczyszczenia płodów rolnych, a także pożytecznych mikroorganizmów probiotycznych oraz stymulujących wzrost i rozwój roślin.

¹EASAC, Regenerative agriculture in Europe A critical analysis of contributions to European Union Farm to Fork and Biodiversity Strategies. European Academies Science Advisory Council, EASAC policy report 44, pp. 70, April 2022, ISBN: 978-3-8047-4372-4, www.easac.eu

Źródło finansowania: BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018; BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017; ERA-NET SusCrop SUSCROP/I/POTATOMETABIOME/01/2019/NCBR; PRELUDIUM BIS-2 NCN UMO-2020/39/O/NZ9/03421; OPUS 12 NCN UMO-2016/23/B/NZ8/00564; OPUS 15 NCN UMO-2018/29/B/NZ9/00982; LIDER/7/0054/L-12/20/NCBR/2021; MINIATURA 5 NCN DEC 2021/05/X/NZ9/01672; MINIATURA 5 NCN 2021/05/X/NZ9/00341; EJP SOIL Proposal ID7 SOMPACS NCBR; HORIZON EUROPE Proposal numer 101082289 LEGUMINOSE.

MIKROORGANIZMY ZIMNOLUBNE – ŹRÓDŁO UNIKATOWYCH I CENNYCH DLA PRZEMYSŁU BIOMOLEKUŁ

Aneta Monika Białkowska

Instytut Biotechnologii Molekularnej i Przemysłowej, Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Polska

E-mail: aneta.bialkowska@p.lodz.pl

Mikroorganizmy zimnolubne są najbardziej rozpowszechnioną grupą ekstremofili na naszej planecie. Wynika to z faktu, że blisko 85% ziemskiej biosfery jest stale narażone na temperatury poniżej 5°C. Te zimne środowiska obejmują Arktykę, Antarktydę, wody morskie, śnieg, lód morski i lodowce, a także gleby obszaru tundry, zimne pustynie i jaskinie. Do organizmów zimnolubnych wyizolowanych z tych środowisk należą przedstawiciele: bakterii, archeonów, drożdży, grzybów strzępkowych, jednokomórkowych glonów i cyjanobakterii. W stosunku do tego rodzaju organizmów używa się często terminów psychrofile oraz psychrotrofy. Drobnoustroje należące do obu z tych grup są zdolne do wzrostu w temperaturze 0°C, jednak optymalna temperatura wzrostu psychrofilii nie przekracza 15°C, natomiast psychrotrofów znajduje się w zakresie 20-40°C.

Dla biologa ekscytujące jest pytanie, dzięki jakim mechanizmom adaptacyjnym psychrofile rozwijają się w tak niezwykle środowiskach. Wiele z nich już poznano na poziomie molekularnym, inne ciągle jeszcze pozostają zagadką. Jedno jest pewne – te ustroje produkują niezwykle biocząsteczki, potencjalnie interesujące dla gospodarki, medycyny, rolnictwa i farmacji. Należą do nich z pewnością białka katalityczne, zaadaptowane do działania w niskich temperaturach. Wiele z tych enzymów, w tym np. psychrofilne proteiny, będące komponentami detergentów piorących w temperaturze wody wodociągowej, β -galaktozydazy wykorzystywane do otrzymywania naturalnego słodzika D-tagatozy, czy lipazy i ksylanazy biorące udział w przetwarzaniu żywności, jest już skomercjalizowanych i wykorzystywanych w nauce i gospodarce. Inne, np. psychrofilne oksydoreduktazy, czekają na komercjalizację i wykorzystanie w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym, czy też chemicznym.

Mikroorganizmy zimnolubne są także źródłem innych, cennych biocząsteczek, np. polinienasyconych kwasów tłuszczowych ω -3 i ω -6, PUFA (nutraceutyki); polihydroksyalkanianów, PHA (medycyna, biopaliwa); biosurfaktantów; unikatowych pigmentów, kompatybilnych solutów (przemysł kosmetyczny i farmaceutyczny), czy białek przeciwlodowych (z ang. *antifreeze proteins* – AFP). Te ostatnie produkowane są przez wiele organizmów psychrofilnych, chronią komórki podczas zamrażania, powodując obniżenie temperatury krzepnięcia wody, jak również inhibując rekrytalizację lodu. Zjawisko rekrytalizacji lodu jest niepożądanym efektem podczas zamrażania, ponieważ powstające duże kryształy lodu uszkadzają strukturę komórek, a co za tym idzie zmieniają jakość mrożonek. Liczne publikacje, w których mowa o dodatku białek AFP do mięsa, mrożonego ciasta czy lodu, dowodzą, że mają one ochronne właściwości, nie powodują zmiany struktury produktu, nie powodują utraty wody oraz barwy podczas procesu rozmrażania.

Ogromna bioróżnorodność drobnoustrojów zimnolubnych pozwala oczekiwać, że w miarę rozwoju badań tych organizmów, asortyment enzymów oraz innych, często unikatowych substancji, które są przez nie produkowane, będzie się poszerzał.

BAKTERIE ANAMMOX – WYJĄTKOWY GRACZ W BIOLOGICZNYCH ROZGRYWKACH USUWANIA AZOTU ŚCIEKÓW.

Aleksandra Ziemińska-Buczyńska¹, Grzegorz Cema¹, Joanna Surmacz-Górska¹, Agata Karło-Białozor², Piotr Gutwiński³, Anna Banach-Wiśniewska², Mariusz Tomaszewski⁴, Filip Gamoń¹, Magdalena Ćwierniewicz-Wojciechowska¹

¹ Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Politechnika Śląska, Polska

² Regionalne Centrum Gospodarki Wodno-Ściekowej w Tychach, Polska

³ Przedsiębiorstwo Gospodarki Wodnej i Rekultywacji S.A. w Jastrzębiu-Zdroju, Polska

⁴ TKS sp. z o.o. w Katowicach, Polska

E-mail: aleksandra.ziembinska-buczynska@polsl.pl

Do lat 70. ubiegłego wieku zakładano, że znane są wszystkie elementy biogeochemicznego obiegu azotu w przyrodzie. Utlenianie azotu amonowego do azotanów (V) było zarezerwowane dla nityfikatorów, a odtworzenie puli wolnego azotu w przyrodzie odpowiadały denityfikatory. Jednak w 1977 Engelbert Broda w oparciu o badania termodynamiczne opublikował dane wskazujące, że istnieje lub istniało takie mikrobiologiczne ogniwo tego cyklu, które prowadzi utlenianie amoniaku w warunkach anoksydacyjnych z azotanem (III) lub (V) jako akceptorem elektronów. Jego hipoteza została potwierdzona w latach 1990. odkryciem w bioreaktorze denityfikującym bakterii, które prowadziły taki proces. Nazwano je bakteriami anammox (ang. anaerobic ammonium oxidation), których badania prowadzone do dziś pozwoliły opisać je jako bardzo ciekawe z punktu widzenia mikrobiologii, ze względu na odmienną strukturę komórkową. Okazało się również, że są one niezwykle wartościowe jako podstawa ekonomicznej biotechnologii usuwania wysokich stężeń azotu amonowego ze ścieków. Proces anammox jest metodą bardzo efektywną, która w oczyszczalni ścieków pozwala zaoszczędzić na napowietrzaniu, niezbędnym nityfikatorom oraz na dozowaniu zewnętrznego źródła węgla organicznego, potrzebnego bakteriom denityfikacyjnym. Bakterie anammox nie są jednak pozbawione wad. Te mikroorganizmy rosną wolno, są wrażliwe na szereg czynników fizyko-chemicznych, a optymalna temperatura ich wzrostu to ponad 30°C. Dlaczego jednak warto zainteresować się bakteriami anammox i prowadzonym przez nie procesem? Na to pytanie chciałabym odpowiedzieć w tej prezentacji, stanowiącej kilkunastoletnią historię badań zespołu naukowców z Politechniki Śląskiej, od badań charakteryzujących morfologię komórki anammox, analiz zbiorowisk tych mikroorganizmów w układach technologicznych, aż po ich charakterystykę biochemiczną i implementację technologiczną w skali półtechnicznej i technicznej. Wyniki tych badań to efekt realizacji kilku projektów badawczych (Pol-Nor/197025/37/2013, N N523 751740, N N523 562138, NCN-2014-13-N-NZ9-00590, UMO-2016/N/NZ9/02147, UMO-2017/25/N/NZ9/01159, UMO-2013/09/D/NZ9/02438 oraz dotacji MEiN na działalność statutową Wydziału Inżynierii Środowiska i Energetyki Politechniki Śląskiej, 2021/22 nr BK/284/RIE7/2022), dający obraz bakterii anammox jako wyjątkowego gracza w usuwaniu związków azotu ze ścieków, ale również niezwykle reprezentanta świata mikrobiologicznego.

Komunikaty ustne:

Nr streszczenia: 0111

NANOMATERIAŁY JAKO REGULATOR METABOLIZMU PIERWOTNEGO I WTÓRNEGO *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Adrian Augustyniak¹, Kamila Dubrowska¹, Joanna Jabłońska¹, Krzysztof Cendrowski², Rafał Rakoczy¹

¹ Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Polska

² Katedra Budownictwa Ogólnego, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Polska

E-mail: adrian.augustyniak@zut.edu.pl

Właściwości nanomateriałów są intensywnie badane pod kątem ich zdolności do hamowania wzrostu drobnoustrojów. Dotychczas potwierdzono kilka głównych mechanizmów powodujących inhibicję komórek wskutek oddziaływań fizycznych, mechanicznych i chemicznych. Mimo znaczącego postępu w tym obszarze, nadal niewiele publikacji zostało poświęconych oddziaływaniu nanostruktur na cechy fizjologiczne drobnoustrojów, w szczególności zastosowanych w koncentracjach subletalnych.

Celem badań była ocena wpływu nanomateriałów węglowych i nanocząstek metali na fizjologię pałeczek *Pseudomonas aeruginosa*.

Materiał badawczy stanowiły wybrane nanomateriały (w tym nanorurki węglowe, tlenek grafenu, nanocząstki metali i tlenków metali). Nanostruktury były testowane z wykorzystaniem pałeczek *P. aeruginosa* ATCC® 27853™. Bakterie były kontaktowane z nanomateriałami zastosowanymi w koncentracji do 1000 µg/ml, co pozwoliło na ustalenie dawek subletalnych. Komórki były ekspozowane na działanie nanomateriału do osiągnięcia stacjonarnej fazy wzrostu. W czasie hodowli i po jej zakończeniu oznaczano gęstość optyczną, ilość komórek i kształt populacji (z wykorzystaniem cytometrii przepływowej), zdolność do tworzenia biofilmu (po 24 h), respirację (z wykorzystaniem resazuryiny), a także wytwarzanie barwników fluorescencyjnych, piocyjaniny i ramnolipidów.

Stwierdzono różnice pomiędzy hodowlami kontrolnymi i wystawionymi na działanie nanomateriałów we wszystkich badanych parametrach. Uzyskany efekt był zależny przede wszystkim od rodzaju nanomateriału i jego koncentracji. Potwierdzono tendencję komórek do aglomeracji w obecności nanostruktur z jednoczesnym zwiększeniem respiracji, co może świadczyć o uruchomieniu mechanizmów odpowiedzi bakterii na stres spowodowany obecnością nanomateriału. Nanostruktury miały także wpływ na metabolizm wtórny *P. aeruginosa*. W niektórych koncentracjach, nanomateriały wzmacniały sekrecję barwników fluorescencyjnych, a także modulowały wytwarzanie piocyjaniny i ramnolipidów.

Nanomateriały mogą specyficznie wpływać na aktywację metabolizmu pierwotnego i wtórnego *P. aeruginosa*. Zaobserwowane zjawiska mają znaczenie ze względu na potwierdzoną aktywację

czynników wirulencji (piocyjanina, ramnolipidy), ale także potencjalne możliwości maksymalizacji biotechnologicznego wytwarzania użytecznych metabolitów.

Badania były finansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, w ramach projektu Preludium 16 (Nr rej. 2018/31/N/NZ1/03064).

ANTYBIOTYKOOPORNE BAKTERIE W POWIETRZU OKOLIC MIEJSKIEJ OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW

Julia Bilińska¹, Jonasz Strzoda¹, Adam Polilejko¹, Joanna Mokracka¹, Ryszard Koczura²

¹ Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

² Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Zakład Mikrobiologii, Polska

E-mail: ryszard.koczura@amu.edu.pl

Oporność na antybiotyki stwierdza się nie tylko u szczepów klinicznych, ale również u bakterii środowiskowych, izolowanych z wód powierzchniowych, gleby, ścieków, i od dzikich zwierząt. Niewiele wiadomo jednak o występowaniu antybiotykoopornych bakterii w powietrzu, stąd też celem pracy było określenie występowania w powietrzu drobnoustrojów opornych na tetracykliny, fluorochinolony i antybiotyki β -laktamowe, a także szczepów zawierających w genomie integrony oporności. Próbkę powietrza pobierano metodą aspiracyjną w pobliżu mechaniczno-biologicznej oczyszczalni ścieków obsługującej Poznań i okoliczne gminy. Bakterie oporne na antybiotyki izolowano na podłożu agarowym BHI z dodatkiem tetracykliny (20 mg/L), cefotaksymu (3 mg/L) lub ciprofloksacyny (2 mg/L). Geny integraz integronowych i geny warunkujące oporność na antybiotyki wykrywano metodą PCR. Liczba bakterii opornych na tetracyclinę wynosiła $5,0 \times 10^2$ jtk/m³, na cefotaksym – $0,9 \times 10^2$ jtk/m³, na ciprofloksacynę – $1,1 \times 10^2$ jtk/m³, a bakterii zawierających w genomie integrony klasy 1 – $7,6 \times 10^2$ jtk/m³. Oporność na tetracykliny u bakterii występujących w powietrzu była determinowana głównie genami *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(E)* i *tet(M)*. W genomach szczepów opornych na antybiotyki β -laktamowe wykryto geny *bla_{CTX}*, *bla_{SHV}*, *bla_{TEM}*, *bla_{OXA}*, *bla_{GES}* i *bla_{VEB}*. Wśród plazmidowych genów oporności na fluorochinolony wykryto *qnrA*. Stwierdzono również obecność pałeczek *Enterobacterales* z integronami klasy 1 i 2. Region zmienny integronów zawierał geny odpowiedzialne za oporność na aminoglikozydy (*aadA*), trimetoprim (*dfrA*), streptotrycynę (*sat2*) jak również arsen (*arsB*).

Źródło finansowania: Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu 2021/41/B/NZ9/01138.

ZASTOSOWANIE SZCZEPIONKI MIKROBOLOGICZNEJ W DEGRADACJI NIESTEROIDOWYCH LEKÓW PRZECWZAPALNYCH

Danuta Wojcieszńska¹, Katarzyna Hupert-Kocurek¹, Urszula Guzik¹, Ariel Marchlewicz¹

¹ Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska, Wydział Nauk przyrodniczych, Uniwersytet Śląski w Katowicach, Polska

E-mail: danuta.wojcieszynska@us.edu.pl

Polska zajmuje 6 miejsce w Europie pod względem spożycia niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) co przyczynia się do pojawiania się tych substancji we wszystkich typach wód w Polsce. Jest to szczególnie niebezpieczne dla organizmów narażonych na długotrwałą ekspozycję. Co więcej, badania wykazały również obecność NLPZ w wodzie pitnej co może negatywnie wpływać na organizm człowieka oraz zmniejszać skuteczność stosowanych leczniczo NLPZ. Decydującą rolę w procesach oczyszczania zbiorników odgrywa mikroflora, która bierze udział zarówno w obiegu podstawowych pierwiastków biogennych, jak również w degradacji substancji toksycznych. Pojawianie się trudnodegradowalnych ksenobiotyków, w tym farmaceutyków, bardzo często wymaga wzmocnienia potencjału degradacyjnego autochtonicznego mikrobiomu zbiornika, poprzez wprowadzenie mikroorganizmów o zwiększonych zdolnościach degradacji tych związków. Celem badań było skonstruowanie szczepionki mikrobiologicznej, która umożliwiałaby wspomaganie oczyszczalni ścieków komunalnych, farmaceutycznych, bytowo-gospodarczych w oczyszczaniu ścieków z zanieczyszczeń NLPZ. W badaniach wykorzystano bakterie z kolekcji szczepów Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach: *Bacillus thuringiensis* B1(2015b), zdolny do rozkładu 6 mg/l naproksenu i 10 mg/l ibuprofenu, *Pseudomonas moorei* KB4 zdolny do rozkładu 25 mg/l paracetamolu i 6 mg/l diklofenaku, *Stenotrophomonas maltophilia* KB2 i *Planococcus* sp. S5 zdolne do rozkładu szerokiej gamy związków aromatycznych, w tym różnorodnych fenoli. Badania degradacyjne prowadzono w pożywce mineralnej o składzie 3,78 g Na₂HPO₄·12H₂O, 0,5 g KH₂PO₄, 5 g NH₄Cl, 0,2 g MgSO₄·7H₂O, 0,01 g ekstraktu drożdżowego z dodatkiem mieszaniny leków w stężeniach 10 mg/l paracetamolu, 5 mg/l ibuprofenu oraz 1 mg/l diklofenaku i naproksenu oraz glukozy w stężeniu 0,5 g/l. Stężenie leków w hodowlach oznaczano metodą HPLC, natomiast glukozy metodą antronową. W badaniach określono wpływ obecności dodatkowych zanieczyszczeń na wydajność rozkładu NLPZ. W wyniku przeprowadzonych badań zoptymalizowano skład szczepionki mikrobiologicznej uzyskując wydajny rozkład NLPZ w szerokim zakresie temperatur, pH oraz w obecności zanieczyszczeń. Uzyskane wyniki pozwalają na podjęcie prób testowania zaprojektowanej szczepionki mikrobiologicznej w warunkach oczyszczalni ścieków.

Źródło finansowania: Narodowe Centrum Badań i Rozwoju na podstawie umowy nr TANGO-IV-A/0050/2019-00

CHARAKTERYSTYKA IZOLATÓW BAKTERYJNYCH Z RÓŻNYCH ŚRODOWISK WYKAZUJĄCYCH CECHY PROMUJĄCE WZROST ROŚLIN O ZRÓŻNICOWANEJ TOLERANCJI NA WYBRANE STRESY ABIOTYCZNE

Angelika Fiodor¹, Kumar Pranaw¹, Nur Ajijah¹

¹ Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiskowej, Uniwersytet Warszawski, Polska

E-mail: a.fiodor@uw.edu.pl

Bakterie promujące wzrost roślin (PGPB) to mikroorganizmy, które mogą wspomagać wzrost roślin i chronić rośliny przed chorobami, a także stresami abiotycznymi poprzez wiele różnych mechanizmów. Różnorodność warunków środowiskowych może wpływać na ewolucję mikroorganizmów i kształtować ich fenotyp. Szczególnie gleba, która jest główną niszą PGPB, jest bardzo niejednorodna pod względem składników odżywczych, pH i wielkości cząstek. Celem badań było wyselekcjonowanie potencjalnych izolatów bakteryjnych wykazujących cechy promujące wzrost roślin oraz zdolnych do przetrwania w warunkach wybranych stresów abiotycznych, takich jak zasolenie lub susza. Szczepy bakteryjne zostały wyizolowane z gleby, piasku z Pustyni Błędowskiej oraz błota z Morza Martwego z Izraela. Pobrane próby gleby pochodziły z ryzofery wybranych zbóż oraz warzyw, tj. żyta, owsa, marchwi, buraków i pietruszki, uprawianych w północno-wschodniej Polsce. Analizę wybranych właściwości promujących wzrost roślin przeprowadzono wśród 33 izolatów bakteryjnych na podstawie: (i) jakościowej oceny zdolności do solubilizacji fosforu (P) (ii) potasu (K) i (iii) cynku (Zn) za pomocą testów na podłożu stałym; (iv) ilościowa kolorymetryczna ocena produkcji auksyny oraz (v) jakościowa ocena produkcji sideroforów. Ponadto na podstawie sekwencjonowania fragmentu genu 16S rRNA zidentyfikowano szczepy bakteryjne, a następnie przeprowadzono ich analizę filogenetyczną. Wśród badanych 33 izolatów bakteryjnych zdolnych do solubilizacji P i K, Zn było odpowiednio 81,8%, 75,8% i 61%. *Klebsiella* spp. AF3II1 wykazała najwyższą solubilizację P i K, podczas gdy *Serratia plymuthica* EDC15 i *Pseudomonas putida* AF1I1 wykazały odpowiednio najwyższą zdolność do wytwarzania auksyn oraz sideroforów. Dodatkowo wykreślono krzywe wzrostu wybranych szczepów w warunkach wysokiego zasolenia. Szczepy *S. plymuthica* EEPC5 oraz *Burholderia ambifaria* AF8II10 są zdolne do wzrostu w warunkach zasolenia kolejno do 8% i 10%. Zgromadzone dane wskazują, iż izolaty bakteryjne o różnym pochodzeniu różnią się właściwościami promującymi wzrost roślin. Ponadto badane organizmy są niejednorodne pod kątem tolerancji na zasolenie oraz suszę.

WPŁYW HERBICYDOWYCH CIECZY JONOWYCH NA ZMIANY MIKROBIOMU GLEB UPRAWNYCH

Agnieszka Piotrowska-Cyplik¹, Jakub Czarny², Łukasz Chrzanowski³, Paweł Cyplik⁴

¹ Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Polska

² Instytut Genetyki Sądowej sp. z o.o. w Bydgoszczy, Polska

³ 3Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska, Polska

⁴ Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Polska

E-mail: agnieszka.piotrowska-cyplik@up.poznan.pl

Alternatywą dla aktualnie stosowanych środków ochrony roślin mogą stać się herbicydowe cieczy jonowe (HCJ). Ciecze jonowe definiuje się jako sole złożone z odrębnych jonów organicznych, które występują w stanie ciekłym w temperaturze poniżej 100 °C. HCJ tak jak wszystkie cieczy jonowe składają się z anionu (który jest cząsteczką o właściwościach herbicydowych) oraz kationu. Ze względu na potencjalnie negatywny wpływ ksenobiotyków na mikroorganizmy, HCJ powinny być badane pod kątem ich wpływu na mikrobiom środowiska w którym są stosowane. Celem pracy była ocena wpływu HCJ na zmianę mikrobiomu gleby rolniczej. Układ doświadczalny składał się z gleby kontrolnej (G) oraz gleby do której dodano herbicyd w postaci czystego związku (jodosulfuron) w ilości 0,1 mg/kg gleby (A1) oraz 25 mg/kg gleby (A2), a także HCJ [C₁₂HOL][S-M] w ilości 0,1 mg/kg gleby (B1) oraz 25 mg/kg gleby (B2) w przeliczeniu na zawartość czystego herbicydu w cząsteczce. Badania prowadzono w butelkach o objętości 1 dm³, zawierającego 100 g gleby. Doświadczenie prowadzono przez 28 dni. Izolację genomowego DNA przeprowadzono z wykorzystaniem zestawu Genomic Mini AX Soil Spin (A&A Biotechnology). Amplifikacji poddano region V4 16S rRNA w oparciu o primery 515F-806R. Sekwencjonowanie uzyskanych amplikonów dokonano na platformie MiSeq (Illumina). Dane wyjściowe procesu sekwencjonowania zostały zaimportowane do programu CLC Microbial Genomics (Qiagen). Dane wyjściowe poddano klastrowaniu niezależnie względem referencyjnej bazy danych: SILVA v119 na poziomie 97% podobieństwa operacyjnych jednostek taksonomicznych (OTU). Wyznaczono wybrane współczynniki różnorodności biologicznej, a także określono zmiany w populacji w metabiomie gleby na poziomie typów. Nie stwierdzono istotnych różnic w składzie mikrobiomu gleby (G) do którego dodano jodosulfuron w stężeniu 0,1 mg/kg gleby (A1) i 25 mg/kg gleby (A2). W glebach tych dominowały: *Firmicutes* (57,7-62,0%), *Bacteroidetes* (5,8-7,6%), *Proteobacteria* (5,7-7,1%) oraz inne (19,2-21,8%). Natomiast dodatek HCJ spowodował istotne zmiany w metabiomie gleby w przypadku obu stężeń (B1 i B2). Udział *Firmicutes* uległ zmniejszeniu do 38,1-39,1%, natomiast wzrósł udział: *Bacteroidetes* (25,0-30,0%) i *Actinobacteria* (16,0-17,9%). Obliczone wskaźniki alfa-bioróżnorodności potwierdziły, że czynnikiem decydującym o negatywnym wpływie HCJ na metabiom gleby był kation nieherbicydowy.

Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki na podstawie decyzji 2018/29/B/NZ9/01136

Plakaty:

Nr streszczenia: 0008

CZY SYMULOWANA POWÓDŹ POWODUJE WZROST BAKTERII PATOGENNYCH W ZALANYCH GLEBACH?

Karolina Furtak¹, Anna Gałązka¹

¹ Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy, Polska

E-mail: kfurtak@iung.pulawy.pl

Celem badań była ocena występowania bakterii patogennych w glebach poddanych warunkom symulowanej powodzi. Zagadnienie to, jest istotne ze względu na możliwość nanoszenia przez wodę patogenów na zalane obszary.

Przeprowadzono doświadczenie *microcosm*, podczas którego w kontrolowanych warunkach zasymulowano 14-dniową powódź wobec wybranych mad rzecznych z zastosowaniem wody rzecznej. Materiał badawczy stanowiły trzy różne mady rzeczne (F1 – mada średnia, F2 – mada lekka, F3 – mada bardzo lekka) stanowiące łąki położone na obszarze Małopolskiego Przełomu Wisły na terenie województwa lubelskiego. Gleby w formie bloków wraz z roślinnością umieszczono w pojemnikach, a następnie zalano wodą pobraną z Wisły na poziomie 5 cm ponad powierzchnię gleby. Do analiz pobrano świeże próbki gleb, wodę z Wisły oraz próbki glebowe po 7 i 14 dniach zastoju wody, a także po 56 dniach od ustąpienia warunków zalania. Określono zróżnicowanie strukturalne społeczności bakterii glebowych metodą sekwencjonowania następnej generacji (NGS) oraz określono potencjalny patogenny charakter uzyskanych sekwencji.

Wyniki badań wykazały, że woda pobrana z Wisły nie była skażona bakteriami z rodzajów *Escherichia* czy *Salmonella*. Jednakże, po 14 dniach zastoju wody w madzie lekkiej wykryto obecność taksonu *Escherichia/Shigella*. Ponowna, wnikliwa analiza uzyskanych wyników wykazała, że we wszystkich glebach po 7 dniach zalania wodą znajdowały się również bakterie z rodzaju *Treponema* (rodzina *Spirochaetaceae*). Wśród bakterii z tego rodzaju występują ludzkie patogeny takie, jak: *T. pallidum* czy *T. carateum*. Poszukiwania uzyskanej sekwencji w bazie danych NCBI nie umożliwiły jej identyfikacji ani jednoznacznego określenia patogenności, bowiem nie jest ona przypisana do konkretnego gatunku z rodzaju *Treponema*. Dodatkowo, w madzie średniej po 56 dniach od ustąpienia warunków powodzi wykryto obecność bakterii z rodzaju *Parachlamydia* (rodzina *Parachlamydiaceae*), które są uważane za potencjalne patogeny ludzkie.

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że warunki nadmiernej wilgotności przyczyniają się do wzrostu bakterii potencjalnie niebezpiecznych dla człowieka, podczas gdy sama woda powodziowa nie musi być nośnikiem patogenów.

WPŁYW OPORNEJ DEKSTRYNY NA MARKERY ODDZIAŁYWANIA ZDROWOTNEGO

Katarzyna Ślizewska¹, Michał Włodarczyk¹, Renata Barczyńska-Felusiak², Janusz Kapuśniak³

¹ Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Polska

² Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych, Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Długosza w Częstochowie, Polska

³ Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych, Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Długosza w Częstochowie, Polska

E-mail: katarzyna.slizewska@p.lodz.pl

Celem badań było określenie wpływu odpornej dekstryny na markery oddziaływania zdrowotnego tj.: aktywność enzymów fekalnych oraz stężenie krótkołańcuchowych i rozgałęzionych kwasów tłuszczowych. Zakres prac obejmował ocenę wzrostu bakterii jelitowych wyizolowanych od dzieci otyłych oraz o prawidłowej masie ciała oraz określenie metabolizmu prowadzonego przez te mikroorganizmy w obecności odpornej dekstryny.

Materiał biologiczny stanowiły hodowle bakterii jelitowych wyizolowane z kału dzieci otyłych oraz o prawidłowej masie ciała. Liczebność mikroorganizmów określano metodą Kocha. Stężenia kwasu mlekowego, mrówkowego, octowego, propionowego, walerianowego, izowalerianowego oraz izomasłowego badano metodą HPLC przy użyciu kolumny Aminex HPX- 87H (BioRAD). Aktywność wybranych enzymów (β -glukuronidazy, α -galaktozydazy, β -galaktozydazy, α -glukozydazy, β -glukozydazy) określono metodą spektrofotometryczną.

Bakterie wchodzące w skład mikrobioty jelitowej wykazywały lepszą dynamikę wzrostu na podłożu wzbogaconym z oporną dekstryną. Porównanie metabolitów fermentacji odpornej dekstryny oraz glukozy przez wybrane szczepy bakterii jelitowych wykazało zauważalnie zwiększone stężenia SCFA, przy równocześnie zmniejszonym stężeniu BCFA w badanych próbkach. Największe różnice zaobserwowano dla kwasu mlekowego, którego stężenie wzrosło niemal dwukrotnie w hodowli z oporną dekstryną w porównaniu z kontrolą. Aktywność enzymów fekalnych (β -glukuronidazy, α -galaktozydazy, β -galaktozydazy, α -glukozydazy, β -glukozydazy) była niższa w obecności odpornej dekstryny w porównaniu do prób kontrolnych zawierających glukozę.

Przeprowadzone testy *in vitro* sugerują, że badana oporna dekstryna posiada właściwości prebiotyczne, albowiem może być skutecznie wykorzystywana przez wybrane szczepy bakterii jelitowych do wzrostu oraz produkcji SCFA, równocześnie zmniejszając stężenie BCFA i enzymów fekalnych.

Źródło finansowania: Grant POIR.04.01.02-00-0102/17-00 pt. „Opracowanie i wdrożenie innowacyjnej technologii produkcji przetworów warzywno-owocowych nowej generacji wzbogaconych błonnikowym preparatem ze skrobi ziemniaczanej o właściwościach prebiotycznych z przeznaczeniem dla dzieci i młodzieży”.

TRICHODERMA SPP JAKO ANTAGONISTA FITOPATOGENÓW GRZYBOWYCH I CZYNNIK BIODegradACJI CELULOZY

Karolina Mróz¹, Barbara Sokołowska¹, Karolina Drężek²

¹ Zakład Mikrobiologii, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego - Państwowy Instytut Badawczy, Polska

² Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska, Polska

E-mail: karolina.mroz@ibprs.pl

Szczepy z rodzaju *Trichoderma* charakteryzują się wysoką aktywnością antagonistyczną wobec fitopatogenów grzybowych wywołujących powszechne choroby roślin uprawnych. Dzięki wykorzystaniu wielu mechanizmów i zdolności do syntezy szerokiego spektrum związków a także statusowi GRAS (ang. Generally Recognized As Safe), mogą być z powodzeniem stosowane jako biologiczne środki ochrony roślin, bez obaw o bezpieczeństwo dla zdrowia ludzi i zwierząt. Ponadto dzięki zdolności do wytwarzania poza komórkowych enzymów litycznych oraz ich wysokiej aktywności, szczepy *Trichoderma* mogą prowadzić biodegradację m.in. biomasy lignocelulozowej poprzez hydrolizę wiązania β -1,4-glikozydowego, umożliwiając jej wykorzystanie w przemyśle biopaliwowym. Celem pracy była ocena możliwości wykorzystania w procesach przemysłowych szczepów *Trichoderma* pochodzących z zasobów Kolekcji Kultur Drobnoustrojów Przemysłowych IBPRS. Aktywność celulolityczną, chitynolityczną, proteolityczną i lipolityczną oceniono z wykorzystaniem klasycznych metod płytkowych – poprzez posiewy na podłoża zawierające specyficzne substraty, umożliwiające obserwację i pomiar stref ich rozkładu. Aktywność antypleśniową wobec 13 szczepów wybranych patogenów roślin: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium poae*, *Fusarium culmorum*, *Botrytis cinerea* i *Alternaria alternata* oceniono makroskopowo poprzez porównanie stref zahamowania wzrostu patogenów w obecności antagonisty w hodowlach płytkowych. Spośród 14 badanych szczepów *Trichoderma* wszystkie wykazywały aktywność celulolityczną, 10 aktywność chitynolityczną, 12 aktywność lipolityczną, natomiast aktywności proteolitycznej nie wykazywał żaden badany szczep. Do dalszych badań biodegradacji biomasy lignocelulozowej wytypowano dwa szczepy *Trichoderma* o najwyższej aktywności celulolitycznej. Dwa szczepy *Trichoderma* o największym potencjale zastosowania w biologicznej ochronie roślin wytypowano do dalszych badań poprawy jakości gleby.

Źródło finansowania: program Inkubator Innowacyjności 4.0 – „Badania nad zastosowaniem grzybów strzępkowych *Trichoderma* do pozyskania enzymów celulolitycznych oraz środków ochrony biologicznej roślin.”

GRONKOWCE WCHODZĄCE W SKŁAD MIKROBIOTY SKÓRY *COLUMBA LIVIA DOMESTICA*

Ewa Szczuka¹, Maria Wesołowska¹, Adrianna Krawiec¹, Jakub Kosicki²

¹ Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Polska

² Zakład Biologii i Ekologii Ptaków, Wydział Biologii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Polska

E-mail: ewasz@amu.edu.pl

Celem pracy było zidentyfikowanie gronkowców wchodzących w skład mikrobioty skóry *Columba livia domestica*. Badaniami objęto 41 osobników. Identyfikację wyizolowanych szczepów bakteryjnych przeprowadzono w oparciu o analizę z wykorzystaniem spektrometrii mas typu MALDI-TOF MS. Zidentyfikowano następujące gatunki: *S. lentus*, *S. xylosus*, *S. equorum*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. sciuri*, *S. vitulinus*, *S. ludgunensis*, *S. hominis* i *S. auricularis*. Szczepy zaliczane do gatunku *S. lentus* zostały wyizolowane z wymazów pobranych od 19 gołębi. Natomiast szczepy zaliczane do gatunku *S. xylosus* zostały wyizolowane z sześciu gołębi, *S. equorum* z czterech, *S. hyicus* z trzech, *S. intermedius*, *S. vitulinus* i *S. sciuri* z dwóch. U żadnego z izolatów nie stwierdzono występowania genu *mecA* warunkującego metycylinooporność. Wszystkie szczepy były wrażliwe na cefoksytynę, ciprofloksacynę, klindamycynę, chloramfenikol, erytromycynę, fosfomicynę, gentamicynę, lewofloksacynę, norfloksacynę, rifampicynę, tobramycynę, trimetoprim/sulfametoksazol i wankomycynę. Jedynie sześć szczepów było opornych na tetracyklinę, a cztery na penicylinę. Szczepy oporne na tetracyklinę należały do gatunku *S. lentus*, *S. hyicus* i *S. intermedius*. Natomiast szczepy oporne na penicylinę należały do gatunku *S. lentus* i *S. hominis*. Tak więc, żaden z izolatów nie został zakwalifikowany do kategorii MDR (*ang.* multidrug-resistance).

PLURALIBACTER GERGOVIAE – NOWE MIKROBIOLOGICZNE ZAGROŻENIE W KOSMETYKACH

Paweł Lisiecki¹, Klaudia Duchowska¹

¹ Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej UM w Łodzi, Polska

E-mail: pawel.lisiecki@umed.lodz.pl

Kosmetyki to preparaty bogate w substancje organiczne i wodę, dlatego stanowią idealne podłoże do rozwoju drobnoustrojów. Mikroorganizmy obecne w kosmetykach mogą wpływać na obniżenie ich jakości przez rozkład substancji aktywnych a nawet stwarzać realne zagrożenie dla zdrowia i życia konsumentów. Coraz częściej z kosmetyków izolowane są drobnoustroje lekooporne. Kontrola mikrobiologiczna kosmetyków powinna obejmować surowce, środowisko produkcji oraz produkt gotowy. Celem pracy była zlecona przez producenta kosmetyku rozszerzona analiza czystości mikrobiologicznej gotowego produktu kosmetycznego bazującego na surowcach pochodzenia naturalnego. Analiza kosmetyku w laboratorium producenta wykazała, że czystość mikrobiologiczna produktu jest na granicy obowiązujących norm i wykryto obecność bakterii, której rutynowymi testami nie udało się zidentyfikować. Powtórna ocenę bezpieczeństwa mikrobiologicznego produktu (czystość mikrobiologiczna i test konserwacji) dokonano wg obowiązujących norm EN-PN w przemyśle kosmetycznym. Identyfikację wyhodowanych bakterii dokonano z użyciem testów biochemicznych i techniką MALDI-TOF. Oznaczenie lekowrażliwości bakterii wykonano metodą krążkowo-dyfuzyjną zgodnie z wytycznymi EUCAST. Badanie zdolności bakterii do wytwarzania: β -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL), indukcyjnych cefalosporynaz AmpC, karbapenemaz serynowych typu KPC, metalo- β -laktamaz (MBL), przeprowadzono metodami krążkowo-dyfuzyjnymi według wytycznych EUCAST, KORLD. Z próbek kosmetyku wyhodowano gram-ujemną, oksydazo-ujemną pałeczkę, którą zidentyfikowano jako *Pluralibacter gergoviae* (dawniej *Enterobacter gergoviae*), klasyfikowaną do rodziny *Enterobacteriaceae*. Wykazano u niej zdolność do syntezy ESBL, co pozwala klinicznie traktować ją jako oporną na penicyliny (bez połączeń z inhibitorami), cefalosporyny (z wyjątkiem cefamycyn) i aztreonam. Bakteria była też oporna na chloramfenikol. Ten oportunistyczny patogen jest szeroko rozpowszechniona w środowisku. Charakteryzuje się także opornością na środki konserwujące (parabeny). Bakteria z kosmetyku może przedostać się do organizmu ludzi przez uszkodzoną skórę lub błony śluzowe. *P. gergoviae* izolowano z zapaleń gałki ocznej, kości i szpiku, dróg moczowych. Odnotowano szereg przypadków wycofania kosmetyków skażonych tym bakteriami. Coraz częściej postuluje się o włączenie *P. gergoviae* do grupy drobnoustrojów niedozwolonych w kosmetykach.

Źródło finansowania: UM w Łodzi 508/3-12-03/508-01-098

BAKTERIE BIOFILMOTWÓRCZE ŚRODOWISKA PRODUKCJI CUKRU I SPOSOBY ICH ELIMINACJI

Andrzej Baryga¹, Teresa Sumińska², Barbara Sokołowska², Alina Kunicka-Styczyńska¹, Stanisław Brzeziński¹

¹ Katedra Cukrownictwa i Zarządzania Bezpieczeństwem Żywności Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechnika Łódzka, Polska

² Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie, Polska

E-mail: andrzej.baryga@p.lodz.pl

Bakterie biofilmotwórcze kolonizujące środowisko produkcji w przemyśle spożywczym stwarzają zagrożenie dla jakości produktu i bezpieczeństwa zdrowotnego konsumenta. W produkcji cukru, bakterie wytwarzające zewnątrzkomórkowe polisacharydy wnoszone są wraz z mikroorganizmami ryzosfery buraka cukrowego. Pomimo, że w kolejnych etapach produkcji następuje znacząca redukcja liczby mikroorganizmów, to w półproduktach i produkcie końcowym znajdowane są bakterie termooporne i przetrwalnikujące. Jedną z cech bakterii sprzyjających przeżyciu wysokotemperaturowych operacji technologicznych jest zdolność do tworzenia zewnątrzkomórkowych polisacharydów (EPS). Bakterie biofilmotwórcze rezydujące na kryształach cukru białego obniżają jego jakość mikrobiologiczną i mogą stanowić zagrożenie produkcji dla przemysłu sokowego czy przetwórstwa owocowo-warzywnego. Celem pracy była identyfikacja drobnoustrojów wytwarzających zewnątrzkomórkowe polisacharydy w sokach cukrowych i cukrze białym, określenie ich etiologii oraz opracowanie sposobu eliminacji. Materiał do badań stanowiły soki cukrowe (rzadki i gęsty) oraz cukier, pochodzące z polskich cukrowni z kampanii cukrowej 2020/2021. Bakterie izolowano według protokołu ICUMSA GS2/3-45 (2017) dedykowanego dla produktów cukrowych, a identyfikację izolatów prowadzono metodami molekularnymi na podstawie sekwencji fragmentu genu 16S rDNA (izolacja DNA, Beat Micro AX Gravity, A&A; startery Alicyc16Sfr i Aliyc16Srev oraz Go Taq G2 Green Master Mix, Promega; sekwencjonowanie GENOMED S.A). Sekwencje nukleotydowe genu 16S rRNA porównano za pomocą programu BLASTN v.2.6.0 z sekwencjami dostępnymi w National Center for Biotechnology Information (NCBI) i z sekwencjami zdeponowanymi w bazie danych GenBank za pomocą programu BLAST. Zidentyfikowano 30 gatunków bakterii wytwarzających EPS. Najwięcej izolatów zaliczono do gatunków: *Bacillus licheniformis*, *Bacillus paralicheniformis*, *Bacillus aerius*, *Bacillus oryzaecorticis*, *Leuconostoc mesenteroides* i *Leuconostoc suionicum*. Sprawdzono skuteczność eliminacji izolatów z wykorzystaniem formaliny, ozonu oraz wybranych preparatów dezynfekcyjnych dedykowanych dla przemysłu spożywczego (Biopoms, Higienizer i Biosterid Mocny I). Preparaty biobójcze i proces ozonowania nie eliminowały całkowicie bakterii tworzących śluzę z soków cukrowych, ale zmniejszały ich liczbę w zakresie 0,6-64,0%, zależnie od preparatu i stosowanej dawki. Najwyższy efekt biobójczy stwierdzono dla preparatu Biosterid Mocny I.

GRONKOWCE WCHODZĄCE W SKŁAD MIKROBIOTY SKÓRY KÓŻ

Maria Wesołowska¹, Ewa Szczuka¹

¹ Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

E-mail: maria.wesolowska@amu.edu.pl

Mikrobiota skóry pełni istotne funkcje wspomagające organizm w obronie przed patogenami poprzez stymulację układu odpornościowego oraz zapobieganie kolonizacji skóry przez drobnoustroje potencjalnie patogenne. Ważną rolę odgrywają gronkowce koagulazo-ujemne, szczególnie *Staphylococcus epidermidis*. Mikrobiota może również stanowić rezerwuár drobnoustrojów oportunistycznych, w tym opornych na antybiotyki. Celem pracy była ocena składu gatunkowego gronkowców izolowanych ze skóry kóz oraz oznaczenie ich wrażliwości na antybiotyki. Ze skóry kóz pobrano wymazy, materiał posiano na podłoża agarowe z krwią i podłoża Chapmana. Inkubowano zgodnie ze standardowymi procedurami badań mikrobiologicznych. Wyhodowane szczepy gronkowców zidentyfikowano do gatunku metodą MALDI-TOF MS. Oznaczenie lekowrażliwości wykonano metodą dyfuzyjno-krążkową dla antybiotyków β -laktamowych, aminoglikozydów, fluorochinolonów, makrolidów, linkozamidów, tetracyklin, tigecykliny, kotrimoksazolu, chloramfenikolu. Wyniki zinterpretowano zgodnie z rekomendacjami EUCAST oraz CLSI. Wyizolowano 45 szczepów gronkowców: *S. sciuri* (13 szczepów), *S. equorum* (8 szczepów), *S. vitulinus* (6 szczepów), *S. conhnii* (5 szczepów), *S. lentus* (4 szczepy), *S. succinus* (3 szczepy), *S. auricularis* (2 szczepy), *S. succinus* (3 szczepy), *S. caprae* (2 szczepy), *S. warneri* (1 szczep), *S. xylosus* (1 szczep). Wszystkie szczepy były wrażliwe na cefoksytynę, nie stwierdzono szczepów metycylioopornych. Trzydzieści szczepów było opornych na moksifloksacynę, siedem na erytromycynę, sześć na klindamycynę, trzy na penicylinę, dwa na tetracyklinę, dwa na ciprofloksacynę, pojedyncze izolaty na lewofloksacynę i chloramfenikol. Zidentyfikowano trzy szczepy MDR, oporne na więcej niż dwie grupy antybiotyków. Zaobserwowano duże zróżnicowanie gatunkowe gronkowców wchodzących w skład mikrobioty skóry kóz. Stwierdzono występowanie szczepów opornych na antybiotyki, w tym te, stosowane w leczeniu zakażeń zarówno u ludzi jak i u zwierząt.

KRZYŻAK BURSZTYNOWY *LARINIOIDES PATAGIATUS* (ARANEAE: ARANEIDAE) REZERWUAREM BAKTERII *SERRATIA LIQUEFACIENS*

Edyta Konecka¹, Paweł Szymkowiak²

¹ Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

² Zakład Taksonomii i Ekologii Zwierząt, Instytut Biologii Środowiska, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

E-mail: edkon@amu.edu.pl

Bakterie *Serratia liquefaciens* to oportunistyczne patogeny człowieka. Wykazują zdolność do kolonizacji różnych powierzchni, w tym komórek układu pokarmowego owadów, ryb, gryzoni i ludzi. *S. liquefaciens* są czynnikiem etiologicznym sepsy, zapalenia rogówki oka i wsierdza, a także owrzodzeń skóry. Wytwarzają liczne czynniki wirulencji: lipopolisacharyd, proteazy, nukleazy, fosfolipazy, adhezyny, elastazę, hemolizynę i proteolizynę. Źródłem mikroorganizmów patogennych dla człowieka mogą być bezkręgowce. Występowanie drobnoustrojów chorobotwórczych dla ludzi jest słabo zbadane u stawonogów, w tym również pająków. Stąd celem pracy było poznanie mikrobiomu tych zwierząt.

W próbkach DNA krzyżaka bursztynowego *Larinioides patagiatus* zebranego w Powidzkim Parku Krajobrazowym zidentyfikowano region międzygenowy (ISR, ang. Intragenic Spacer Region) 16S/23S rDNA *S. liquefaciens* o długości 520 pz. Wykazano wysoki wynoszący 96% poziom identyczności sekwencji ISR bakterii wykrytej u krzyżaka bursztynowego oraz izolatu *S. liquefaciens* wyhodowanego z owrzodzeń skóry u pacjenta Szpitala Uniwersyteckiego Marqués de Valdecilla w Hiszpanii (nr akcesyjny sekwencji w GenBank CP011303). Nieco niższy poziom identyczności równy 95% stwierdzono między sekwencją mikroorganizmu obecnego u *L. patagiatus* i sekwencjami szczepów *S. liquefaciens* wyizolowanych z larw owada z rzędu Coleoptera (nr akcesyjny sekwencji w GenBank CP033162) oraz z próbek pobranych od osób hospitalizowanych (nr akcesyjne sekwencji w GenBank CP014017 i CP068148). W przeprowadzonej analizie filogenetycznej opartej na sekwencji ISR oprócz ww. uwzględniono także sekwencje bakterii dostępne w GenBank zidentyfikowane w próbkach wody, żywności i materiału pobranego z roślin. Szczep *S. liquefaciens* wykryty u krzyżaka bursztynowego był najbliższym spokrewnionym z izolatami wyhodowanymi z owrzodzeń skóry pacjenta – wartość wsparcia „bootstrap” dla drzewa filogenetycznego była równa 87.

Wysoki stopień identyczności sekwencji regionu międzygenowego 16S/23S rDNA bakterii *S. liquefaciens* zidentyfikowanej u pająka *L. patagiatus* oraz u osoby z owrzodzeniem skóry, a także bliskie pokrewieństwo filogenetyczne tych drobnoustrojów może wskazywać na występowanie u pająków patogenów oportunistycznych co potwierdzają także doniesienia innych autorów (m. in. Dunbar i in., 2020, Sci. Rep. 10, 20916; Voloshyn i in., 2017, Int. J. Ecosyst. Ecol. Sci. 7, 587–596).

PRZYDATNOŚĆ FARMAKOPEALNEJ METODY BADANIA CZYSTOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ KAPSULEK TWARDYCH Z LIMECYKLINĄ

Katarzyna Bucała-Śladowska¹, Joanna Białecka¹, Anna Białecka¹

¹ Centrum Badań Mikrobiologicznych i Autoszczepionek imienia dr Jana Bobra Sp. z o.o., Polska

E-mail: katarzyna.bucala@cbm.com.pl

Kontrola przydatności metody ma na celu ocenę zdolności wykrywania drobnoustrojów w obecności badanego produktu, tzn. udowodnienie, że badana próbka preparatu farmaceutycznego lub surowca nie powoduje zahamowania wzrostu drobnoustrojów w warunkach przeprowadzania testu a uzyskane wyniki nie są fałszywie ujemne. Wykonując badania czystości mikrobiologicznej często badamy substancje o działaniu bójącym lub statycznym wobec drobnoustrojów. Dla takich substancji konieczne jest wyciszenie takiego działania w trakcie badań czystości mikrobiologicznej zarówno metodą ilościową jak i jakościową. W tym celu stosuje się różnego rodzaju neutralizatory, wprowadza metodę filtracji membranowej czy zwiększa objętość pożywki namnażającej w badaniach jakościowych. Celem pracy było zbadanie przydatności farmakopealnej metody badania czystości mikrobiologicznej dla kapsulek twardej zawierających limecyklinę. Limecyklina jest antybiotykiem z grupy tetracyklin, mechanizm jej działania polega na hamowaniu syntezy białek bakteryjnych. Limecyklina, podobnie jak inne antybiotyki z tej grupy zaliczana jest do substancji o działaniu bakteriostatycznym, o szerokim spektrum działania. Jest lekiem podawanym doustnie, niezawierającym wody. Przydatność dla kapsulek z limecykliną wykonano najpierw dla standardowej metody bezpośredniego powiewu w celu określenia stopnia zahamowania wzrostu dla szczepów wzorcowych, następnie użyto w tej metodzie rozcieńczalnika z neutralizatorami. Najlepsze wyciszenie działania bójącego uzyskano po zastosowaniu metody filtracji membranowej z wcześniejszym etapem prefiltracji. Pomimo zastosowania tej metody odzysk większy niż 50% w porównaniu z kontrolą dla bakterii Gram-dodatnich (*Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus*) udało się uzyskać dopiero w próbce zawierającej 0.00001g substancji badanej. W trakcie badania przydatności metod jakościowych z zaszczepionych podłoży płynnych wyizolowano szczepy testowe na odpowiednich podłożach wybiórczych zarówno dla kontroli dodatniej jak i próby właściwej dopiero po zwiększeniu ilości bulionu z hydrolizatem kazeiny i soi z 100 do 1000 ml. Wykonane badanie czystości mikrobiologicznej metodą filtracji membranowej z zastosowaniem opisanej modyfikacji, pozwala wyznaczyć próg detekcji dla TYMC wynoszący 1 cfu/1g, dla TAMC 10 cfu/1g.

OZONOWANIE JAKO WSTĘPNY ETAP TECHNOLOGII OCZYSZCZANIA ŚCIEKÓW POCHODZĄCYCH Z PRZEMYSŁU KOSMETYCZNEGO

Daria Kowalczyk-Chrzastowska¹, Kamila Korzekwa¹, Gabriela Bugła-Płoskońska¹

¹ Zakład Mikrobiologii, Wydział Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego, Polska

E-mail: 334091@uwr.edu.pl

Jedną z najstarszych metod oczyszczania ścieków, jest używanie bakteryjnych osadów czynnych. Wiele zakładów przemysłowych rezygnuje jednak z ich użycia ze względu na czynniki przeszkadzające tj. pozostałości wielkocząsteczkowych związków organicznych (związki zapachowe, barwniki, związki powierzchniowo czynne). Dzięki metodom zaawansowanego utleniania jak np. proces ozonowania, można uzyskać bardzo dobry stopień rozkładu i redukcji stężeń tych związków, a tym samym zapobiec niekontrolowanemu wprowadzaniu do środowiska drobnoustrojów chorobotwórczych. Celem badawczym jest zasadność wprowadzania procesu ozonowania jako wstępnego etapu oczyszczania ścieków przemysłowych. Zakłada się uzyskanie całkowitej dezynfekcji ścieków, dezodorację, odbarwienie oraz redukcję ładunku ChZT i stężenia anionowych ZPC. Projektowany proces ma posłużyć jako wstęp do etapu biologicznego oczyszczania. Do badań wykorzystano ścieki pochodzące z produkcji kosmetyków i detergentów. Każdą partię ścieków poddawano wstępnie, a także w trakcie procesu ozonowania, badaniu czystości mikrobiologicznej, analizie zawartości ładunku ChZT oraz badano stężenie anionowych ZPC. Przedmiotowe ścieki ozonowano przez czas 2 h, pobierając kolejno próbki co 0,5 h. Po zakończeniu badań każdą próbkę oceniano pod kątem zapachu oraz zmiany barwy. Sprawdzano również stabilność dezynfekcji w czasie. Badania przeprowadzano w temperaturze pokojowej. Przepływ ozonu to 4g O₃/h. Badane ścieki zawierały na wstępie niepoliczalną ilość drobnoustrojów w objętości 0,33 ml, z których wyizolowano *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Pantoea agglomerans*. Zakres parametrów ChZT kształtował się na poziomie od 37,5 g/l O₂ do 61,5 g/l O₂. Podobnie wysoka była zawartość anionowej ZPC - od 370 mg/l do 1000 mg/l. Jako rezultat, w każdym z badanych przypadków uzyskano redukcję nieprzyjemnego zapachu i wybielenie ścieków (po 2h). Posiewy wykazywały redukcję liczby mikroorganizmów po 0,5 h ozonowania z 1,64x10³ jtk/g do 4,16x10² jtk/g, by po 1,5 h pozostawić ścieki czyste mikrobiologicznie. Efekt dezynfekcyjny utrzymywał się do 7 dni. Uzyskano także częściową redukcję ładunku zanieczyszczeń ChZT. Stężenia anionowych ZPC redukowały się od 10 do 14 %. Zaproponowana metoda przynosi założone rezultaty w zakresie zmiany zapachu, koloru i dezynfekcji. Przeprowadzony proces pozwala na buforowanie ścieków w przed przystąpieniem do kolejnych etapów, dzięki utrzymującemu się w czasie efektowi dezynfekcji.

BADANIE WPŁYWU PREPARATÓW BIOLOGICZNYCH NA AKTYWNOŚĆ METABOLICZNĄ MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH W GLEBIE ROLNICZEJ

Ewelina Nerek¹, Bożena Mazurkiewicz¹, Tomasz Krucoń²

¹ Zakład Mikrobiologii, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego - Państwowy Instytut Badawczy, Polska

² Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Polska

E-mail: nerek.ewelina@gmail.com

Aktywność metaboliczna mikroorganizmów glebowych jest ważnym parametrem gleby decydującym o jej żyzności. Reakcje katalizowane w glebie przez enzymy mikroorganizmów są kluczowe w zachowaniu obiegu materii w środowisku. Odpowiednio dobrane mikroorganizmy zaaplikowane do naturalnego środowiska stymulują tworzenie próchnicy glebowej, rozkładają resztki pożywnie i podnoszą zdrowotność gleb poprzez ograniczenie występowania fitopatogenów. Przeprowadzono serie doświadczeń z użyciem systemu OxiTop® firmy WTW pozwalającego na określenie biologicznego zapotrzebowania na tlen (BZT) w badanej glebie rolniczej. Zasada działania użytej metody polega na tym, że mikroorganizmy glebowe przeprowadzając procesy utleniania związków organicznych w glebie zużywają tlen, przy jednoczesnym wydzielaniu dwutlenku węgla, który rozpuszcza się w umieszczonym w naczyniu z badaną glebą roztworze wodorotlenku sodu. Powoduje to spadek ciśnienia w układzie badawczym rejestrowany za pomocą systemu OxiTop®. Spadek jest tym wyższy, im intensywniej zachodzą procesy utleniania materii organicznej. W doświadczeniu zbadano wpływ bioaugmentacji za pomocą dwóch rynkowych preparatów bakteryjnych oraz prototypu własnego, zawierającego kompozycję pożytecznych mikroorganizmów, pochodzących z banku kultur Plant Microbiotics. Jednocześnie glebę we wszystkich układach poddano biostymulacji pożywką M9 (1 ml/g gleby). Próba kontrolna nie została poddana bioaugmentacji, jedynie potraktowana pożywką M9. We wszystkich układach badawczych zastosowano glebę pochodzącą z żyznych obszarów Polski – województwa dolnośląskiego. Badana gleba rolnicza wyjściowo zawierała 10^8 jednostek tworzących kolonie (jtk) bakterii w 1 gramie. Stwierdzono, że sama biostymulacja mikroorganizmów glebowych za pomocą pożywki M9 spowodowała efektywny wzrost BZT. Biostymulacja mikroorganizmów obecnych w glebie lub biostymulacja i jednoczesna bioaugmentacja przez dodanie wyselekcjonowanych szczepów z prototypu własnego (w ilości 10^6 jtk/g gleby) przyczyniły się do usprawnienia rozkładu materii organicznej w glebie w istotnie większym stopniu niż zastosowanie bioaugmentacji za pomocą preparatów handlowych.

DŁUGOTERMINOWE PRZEŻYCIE BAKTERII ZLIOFILIZOWANYCH W LATACH 1968-2017 NA PRZYKŁADZIE ZASOBÓW POLSKIEJ KOLEKCJI MIKROORGANIZMÓW

Agnieszka Korzeniowska-Kowal¹, Katarzyna Bzowa¹, Anna Wzorek¹, Gabriela Cieniuch¹, Andrzej Gamian¹

¹ Polska Kolekcja Mikroorganizmów, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, Polska

E-mail: agnieszka.korzeniowska-kowal@hirszfeld.pl

Polska Kolekcja Mikroorganizmów (PCM, Polish Collection of Microorganisms), istnieje w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk od 1967 roku i jest zarejestrowana w Światowej Federacji Kolekcji Drobnoustrojów (WFCC) pod numerem 106. Kolekcja PCM posiada w swoich zasobach ponad 3200 szczepów bakteryjnych, które były gromadzone przez kilka generacji badaczy pracujących w dziedzinach nauk biologicznych i medycznych. Głównymi zadaniami kolekcji mikroorganizmów są izolacja, identyfikacja, zabezpieczenie, przechowywanie oraz dystrybucja kultur mikroorganizmów. Istotnym jest, aby kolekcjonowane kultury pozostawały w zdolnej do życia formie o stabilnej charakterystyce morfologicznej, genetycznej i biochemicznej. W tym celu od początku istnienia PCM szczepy są zabezpieczane w postaci zliofilizowanej w warunkach próżniowych i stabilizowane głównie przy użyciu odtłuszczonego mleka.

Przeprowadzono analizę przeżywalności wybranych 339 szczepów bakteryjnych w podziale na pięć grup czasowych wynikających z daty ich liofilizacji w latach 1968-2017. Ożywione mikroorganizmy poddano weryfikacji gatunkowej poprzez przeprowadzanie identyfikacji metodami MALDI Biotyper oraz dla wybranych szczepów sekwencjonowania genu 16S rRNA. Szczepy liofilizowane w Polskiej Kolekcji Mikroorganizmów od 1968 roku charakteryzują się wysoką przeżywalnością długoterminową. W liofilizatach z zasobów PCM analizowane było wiele różnych gatunków i rodzajów mikroorganizmów, a mimo tego ich jakościowa przeżywalność w latach 1968–1987 wynosi ponad 90%, natomiast szczepy zliofilizowane od roku 1988 wykazują 100% żywotności.

Uzyskane wyniki potwierdzają istotę i korzyści z deponowania wartościowych drobnoustrojów w profesjonalnych kolekcjach mikroorganizmów.

PRZECIWDROBNOUSTROJOWA AKTYWNOŚĆ EKSTRAKTÓW CO₂ OTRZYMANYCH Z *GLECHOMA HEDERACEA*

Daniela Gwiazdowska¹, Krzysztof Juś¹, Katarzyna Marchwińska¹, Szymon Frąk¹, Pascaline Aimee Uwineza², Agnieszka Waśkiewicz², Romuald Gwiazdowski³

¹ Katedra Przyrodniczych Podstaw Jakości, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, Polska

² Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Polska

³ Centrum Badań Rejestracyjnych Agrochemikaliów, Instytut Ochrony Roślin - Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu, Polska

E-mail: daniela.gwiazdowska@ue.poznan.pl

Bluszcz kurdybanek (*Glechoma hederacea* var. *longituba*) to roślina zielna z rodziny *Lamiaceae* stosowana w medycynie tradycyjnej, której właściwości wciąż nie w pełni zostały poznane. Celem pracy była ocena biologicznej aktywności ekstraktów uzyskanych z *G. hederacea* metodą ekstrakcji nadkrytycznym CO₂ stosując zróżnicowane warunki ekstrakcji. Zakres badań obejmował ocenę aktywności przeciwdrobnoustrojowej (wyznaczenie wartości MIC) względem wybranych bakterii i grzybów z uwzględnieniem mechanizmu działania oraz aktywności przeciwutleniającej w relacji do zawartości związków polifenolowych. Aktywność przeciwutleniającą oznaczano metodami TEAC i DPPH, a zawartość związków polifenolowych metodą Folina-Ciocalteu. Aktywność antybakteryjną oznaczano względem bakterii stanowiących zagrożenie dla jakości i bezpieczeństwa żywności (m.in. *Salmonella* Enteritidis, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*), natomiast oddziaływanie antygrzybowe oznaczano względem drożdżaków *Candida albicans* oraz kilku gatunków toksynotwórczych grzybów z rodzajów *Fusarium*. Do oceny żywotności komórek mikroorganizmów zastosowano mikroskopię fluorescencyjną z użyciem diocjanu karboksyfluoresceiny (cFDA) i jodku propidyny (PI). Uszkodzenie błony komórkowej oceniano spektrofotometrycznie określając uwalnianie materiału wewnątrzkomórkowego. Wyniki doświadczeń wykazały, że ekstrakty SC-CO₂ są bogatym źródłem związków polifenolowych i wykazują właściwości antyoksydacyjne oraz przeciwdrobnoustrojowe, przy czym aktywność biologiczna zależy od warunków ekstrakcji. Wyższa temperatura w trakcie ekstrakcji negatywnie wpływała na aktywność antybakteryjną, nie miała natomiast większego wpływu na oddziaływanie względem grzybów. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa zależała również od gatunku drobnoustroju.

Źródło finansowania: NCN, grant nr 2018/31/B/NZ9/03485.

NOWE GENOMY MIKROORGANIZMÓW HALOFILNYCH WYZIOLOWANYCH ZE ŹRÓDEŁ SOLANKOWYCH W POŁUDNIOWEJ POLSCE

Jakub Lach¹, Dominik Strapagiel², Agnieszka Matera-Witkiewicz³, Paweł Stączek¹

¹ Katedra Mikrobiologii Molekularnej, Uniwersytet Łódzki, Polska

² Pracownia Biobank, Uniwersytet Łódzki, Polska

³ Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Polska

E-mail: jakub.lach@biol.uni.lodz.pl

Mikroorganizmy halofilne stanowią niezwykle ciekawą grupę drobnoustrojów. W ostatnich latach stan wiedzy na temat halofili znacznie się zwiększył dzięki zastosowaniu metod sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Problemem badawczym jednak nadal pozostaje uzyskanie czystych kultur tych drobnoustrojów, ze względu na specyficzne wymagania dotyczące ich hodowli. Celem prezentowanych badań było ustalenie sekwencji genomów siedmiu mikroorganizmów halofilnych i określenie ich przynależności taksonomicznej. Analizowane mikroorganizmy zostały wyizolowane z solanki pochodzącej z ujęć w rejonie zapadliska przedkarpackiego i zostały wyhodowane w warunkach laboratoryjnych. Następnie wyizolowano DNA, które posłużyło do przygotowania bibliotek DNA do sekwencjonowania NGS. Przygotowane biblioteki zostały zsekwencjonowane w układzie 2x150bp. Otrzymane dane zostały złożone za pomocą narzędzia SPAdes. Uzyskane złożenia zawierały od 12 do 235 contigów. Wielkość genomów wahała się od 3 486 124bp do 3 870 697bp. Kompletność genomów oceniona za pomocą narzędzia CheckM była w przedziale od 97.84% do 99.86%. Kontaminacja zawierała się w przedziale od 0.54% do 2.74%. Genomy zostały sklastrowane za pomocą narzędzia dRep w oparciu o średnie podobieństwo sekwencji nukleotydowych (ANI). Genomy oznaczone jako Halo3 oraz Halo27 stworzyły samodzielne klastry. Dwa genomy stworzyły klaster o numerze 3 oraz następne trzy genomy stworzyły klaster o numerze 4. Genomy reprezentujące poszczególne klastry zostały poddane analizie porównawczej z bazą genomów referencyjnych. Na podstawie podobieństwa sekwencji wykazano, że genom Halo27 najprawdopodobniej należy do nowego gatunku należącego do rodzaju Halopenitus, genom Halo3 należy do szczepu z gatunku Halorubrum amylolyticum, genomy z klastra 3 należą najprawdopodobniej do nowego gatunku z rodzaju Halomonas oraz genomy z klastra 4 najprawdopodobniej należą do nowego gatunku z rodzaju Chromohalobacter. Podsumowując, na podstawie analizy genomów badanych szczepów wykazano, że należą one do czterech gatunków. Trzy z tych gatunków najprawdopodobniej są nowymi gatunkami mikroorganizmów halofilnych. Uzyskane wyniki pozwalają na pogłębienie wiedzy na temat halofili i stanowią kolejny etap na drodze lepszego poznania tej grupy drobnoustrojów.

Prezentowane badania były współfinansowane ze środków Unii Europejskiej, Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach projektu „InterDOC-START” (POWR.03.02.00-00-I033/16-00)

IDENTYFIKACJA SZCZEPÓW *PROTOTHECA* IZOLOWANYCH OD KRÓW MLECZNYCH I ZE ŚRODOWISKA ICH BYTOWANIA NA TERENIE POLSKI

Karolina Jankowska¹, Zofia Bakula², Bartłomiej Jasiński², Henryk Krukowski³, Henryka Lassa⁴, Tomasz Jagielski²

¹ Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Polska

² Zakład Mikrobiologii Medycznej, Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Polska

³ Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Polska

⁴ Laboratorium Badania Mleka w Bydgoszczy, Bydgoska Szkoła Wyższa, Polska

E-mail: jk.jankowskakarolina@gmail.com

Do rodzaju *Prototheca* należą jednokomórkowe, bezchlorofilowe, drożdżakopodobne glony. Izolowane są ze środowiska, zarówno z próbek lądowych jak i wodnych. Spośród 15 obecnie poznanych gatunków, 6, tj. *Prototheca wickerhamii*, *Prototheca ciferrii*, *Prototheca bovis*, *Prototheca miyajii*, *Prototheca cutis* i *Prototheca paracutis*, to patogeny oportunistyczne człowieka i zwierząt, wywołujące tzw. prototekozy. Najczęstszym źródłem zakażenia jest bezpośredni kontakt patogenu, obecnego w wodzie lub glebie, z uszkodzoną tkanką. Wśród zwierząt zakażenia wywoływane przez glony *Prototheca* spp. dotyczą głównie bydła, przyjmując postać ziarniniakowego zapalenia wymienia (*mastitis*). Głównym czynnikiem etiologicznym jest gatunek *P. bovis*. Celem pracy była identyfikacja gatunkowa szczepów *Prototheca* spp. izolowanych od krów mlecznych oraz ich środowiska hodowlanego. Badanie objęło łącznie 36 szczepów izolowanych w latach 2020-2021. W tej liczbie znalazło się 29 szczepów pochodzenia odzwierzęcego, tj. izolowanych z próbek mleka (n=19), jamy ustnej (n=2), nosa (n=1), pochwy (n=2), odbytu (n=4) i kału (n=1). Pozostałe szczepy (n=7) pochodziły ze środowiska okołohodowlanego (paśników i poidel). Glony hodowano na podłożu Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Becton Dickinson). DNA izolowano stosując zestaw GeneMATRIX Environmental DNA & RNA Purification Kit (EURx). Identyfikacja gatunkowa prowadzona była w oparciu o analizę sekwencyjną fragmentu genu *CYTB* (Jagielski i wsp., 2018) z wykorzystaniem aplikacji Prototheca-ID (<https://prototheca-id.org/>) (Dziurzyński i wsp., 2021). Spośród 36 identyfikowanych szczepów, 22 (61,1%) rozpoznano jako *P. bovis*, 8 (22,2%) *P. ciferrii*, 6 (16,7%) *P. blaschkeae*. Najwięcej (20; 69%) szczepów izolowanych od zwierząt należało do gatunku *P. bovis*. Gatunki *P. ciferrii* oraz *P. blaschkeae* reprezentowane były przez odpowiednio 6 (20,7%) i 3 (14,3%) szczepy. Wszystkie (n=19) szczepy izolowane z mleka oznaczone zostały jako *P. bovis*. Ze środowiska, najczęściej izolowano *P. blaschkeae* (3; 42,8%), a w dalszej kolejności *P. bovis* (2; 28,6%) oraz *P. ciferrii* (2, 28,6%).

Ogólnie, gatunek *P. bovis* dominował wśród prób odzwierzęcych. Był jedynym gatunkiem izolowanym z prób mleka. Obserwacja ta potwierdza wiodącą rolę *P. bovis* jako czynnika etiologicznego *mastitis* u krów mlecznych w Polsce i na świecie.

INTEGRONY OPORNOŚCI PAŁECZEK *ENTEROBACTERALES* WYHODOWANYCH Z PRÓBEK POBRANYCH OD PISKŁĄT, Z POWIERZCHNI JAJ I GNIAZD BOCIANA BIAŁEGO Z TERENU POLSKI I HISZPANII

Klaudia Kortus¹, Martyna Łowicka¹, Maria Gierszon¹, Adam Polilejko¹, Jonasz Strzoda¹, Zuzanna Zielińska², Zuzanna Jagiełło³, Alejandro Lopez Garcia⁴, Ryszard Koczura¹, Joanna Mokracka¹

¹ Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

² Zakład Biologii i Ekologii Ptaków, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

³ Pracownia Zoologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Polska

⁴ Department of Biodiversity, Ecology and Evolution, University Complutense of Madrid, Spain

E-mail: joanna.mokracka@amu.edu.pl

Integrony to elementy genetyczne zdolne do pozyskiwania i ekspresji kaset genowych determinujących oporność na antybiotyki. Integrony są związane z wielolekoopornością bakterii i ze względu na lokalizację w plazmidach mogą przenosić się w procesach horyzontalnego transferu genów w populacjach mikroorganizmów. Celem badań było określenie występowania integronów oporności u szczepów *Enterobacterales* wyizolowanych z 1119 próbek pobranych z jamy dziobowej i kloaki piskląt, z powierzchni jaj i gniazd bociana białego (*Ciconia ciconia* L.), zlokalizowanych na terenie Polski i Hiszpanii w latach 2018-19. Szczepy izolowano na podłożu Chromocult® Coliform Agar ze streptomycyną (40 mg/L). Obecność genów trzech klas integraz wykrywano metodą PCR, a liczbę oraz wielkość części zmiennych oznaczono za pomocą reakcji CS-PCR i Hep-PCR. Uzyskane amplikony zsekwencjonowano. Szczepy identyfikowano z wykorzystaniem API 20E. W genomach 1387 streptomycynoopornych szczepów *Enterobacterales* stwierdzono obecność integronów klasy 1 i 2, przy czym częstość występowania szczepów z integronami klasy 1 była większa niż tych z integronami klasy 2. W części zmiennej integronów klasy 1 występowały kasety determinujące oporność na antybiotyki, kodujące białka potencjalnie związane z opornością (transportery ABC, permeazy), oraz kodujące białka hipotetyczne, bądź o znaczeniu fizjologicznym. Najczęściej identyfikowanymi kasetami genowymi integronów klasy 1 i 2 były kasety powszechnie występujące w integronach szczepów klinicznych i środowiskowych: *aadA* – warunkująca oporność na aminoglikozydy, *drf* – warunkująca oporność na trimetoprim i *sat* – warunkująca oporność na streptotrycynę. W integronach klasy 1 najczęściej występującymi szeregami kaset były: *dfrA15-aadA2*, *dfrA12-aadA2* i *dfrA1-aadA1*, natomiast w integronach klasy 2 szeregi *sat2-aadA1* i *drfA1-satA1-aadA1*. Większa różnorodność kaset genowych, obejmujących m.in. geny warunkujące oporność na amfenikole, linkozamidy oraz kodujące beta-laktamazy, charakteryzowała szczepy wyizolowane z jamy dziobowej i z kloaki, w porównaniu z wyosobnionymi z powierzchni jaj i gniazd. Występowanie bakterii z integronami u piskląt bocianów i w gniazdach zwiększa ryzyko rozprzestrzeniania się wielolekoopornych szczepów bakteryjnych związane z migracją ptaków.

EKSPRESJA WYBRANYCH GENÓW U BAKTERII Z RODZAJU *SERRATIA* I *PSEUDOMONAS* W OBECNOŚCI GRZYBOWYCH FITOPATOGENÓW

Daria Chlebek¹, Bożena Nowak¹, Katarzyna Hupert-Kocurek¹

¹ Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Nauk Przyrodniczych, Polska

E-mail: daria.chlebek@gmail.com

Wśród pospolitych chorób roślin możemy wyróżnić fuzariozy wywoływane przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, ryzoktoniozy wywoływane przez grzyby z rodzaju *Rhizoctonia*, czy zgniliznę twardzikową powodowaną przez grzyby z rodzaju *Sclerotinia*. Bakterie endofityczne, naturalnie zasiedlające rośliny, mogą wykazywać antagonistyczne oddziaływania wobec tego rodzaju patogenów, przez co mogą pełnić istotną rolę w procesach biologicznej ochrony roślin. Ponieważ rodzaj oddziaływań antagonistycznych jest często cechą charakterystyczną dla danego szczepu bakterii, celem prowadzonych badań było określenie wpływu *Rhizoctonia solani* W70 (RS), *Fusarium avenaceum* (FA), *Colletotrichum dematium* K (CD) oraz *Sclerotinia sclerotiorum* K2291 (SS) na poziom ekspresji wybranych genów u endofitycznych szczepów z rodzaju *Serratia* i *Pseudomonas*. Na podstawie analizy genomów badanych szczepów bakterii wytypowano geny potencjalnie zaangażowane w procesy biokontroli, w tym: konkurencję o przestrzeń życiową i składniki pokarmowe, produkcję antybiotyków, produkcję enzymów degradujących ściany komórkowe patogenów oraz produkcję lotnych związków. Zastosowana metodyka obejmowała zaprojektowanie starterów dla wytypowanych oraz referencyjnych genów, izolację całkowitego RNA z układów badawczych i kontrolnych, ocenę jakości i ilości RNA, oczyszczanie RNA z pozostałości genomowego DNA, syntezę cDNA oraz reakcję qPCR. Względny poziom ekspresji genów obliczano metodą podwójnej delty opartą na matematycznej analizie wartości Ct badanego genu w stosunku do Ct genu referencyjnego. Otrzymane wyniki wykazały istotne różnice w poziomie ekspresji genów u badanych szczepów bakterii w odpowiedzi na dany patogen. Może to wskazywać na udział różnych mechanizmów w kontroli grzybowych patogenów roślin przez badane szczepy.

Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki, UMO-2020/39/B/NZ9/00491

POTENCJAŁ PROBIOTYCZNY BAKTERII *PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS* WYIZOLOWANYCH Z ODCHODÓW PROSIĄT SSĄCYCH

Katarzyna Marchwińska¹, Daniela Gwiazdowska¹

¹ Katedra Przyrodniczych Podstaw Jakości, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, Polska

E-mail: katarzyna.marchwinska@ue.poznan.pl

Mikrobiota przewodów pokarmowych zwierząt budzi duże zainteresowanie jako źródło bakterii o potencjale probiotycznym, co ma związek zarówno z poszukiwaniem alternatywnych środków przeciwdrobnoustrojowych w obliczu nasilającego się problemu oporności bakterii na antybiotyki jak i polityką UE. Obecne strategie europejskie (The European Great Deal, Farm to Fork Strategy) koncentrują się na żywności wysokiej jakości, w tym m.in. na dobrostanie zwierząt. Ze względu na korzystny wpływ na zdrowie i stymulację wzrostu probiotyki znajdują szerokie zastosowanie w paszach dla zwierząt, szczególnie dla świń i drobiu. Celem pracy było określenie *in vitro* właściwości probiotycznych oraz użytkowych jako dodatku paszowego dla świń, izolatu bakterii *Pediococcus pentosaceus*. Bakterie *P. pentosaceus* wyizolowano z próbki odchodów zdrowego prosięcia ssącego. Izolat scharakteryzowano jako Gram-dodatnie ziarniaki ułożone w tetrady nie wytwarzające katalazy. Następnie dokonano identyfikacji metodą spektrometrii mas MALDI-TOF i sekwencjonowania genu 16S rRNA. Potencjał probiotyczny bakterii *P. pentosaceus* określano na podstawie aktywności antybakteryjnej względem 14 mikroorganizmów patogennych, wrażliwości na antybiotyki, produkcji kwasu mlekowego, aktywności enzymatycznej, hydrofobowości powierzchni komórek i przeżywalności w warunkach przewodu pokarmowego. Bakterie *P. pentosaceus* wykazały: działanie hamujące 13 z 14 bakterii wskaźnikowych oraz wrażliwość wobec badanych antybiotyków wg. wytycznych EFSA. Wytwarzanie kwasu mlekowego określono na poziomie $24,62 \pm 0,06$ mg/cm³. Szczep charakteryzował się właściwościami proteolitycznymi, dobrą tolerancją zarówno niskiego pH podłoża jak i soli żółciowych. Hydrofobowość komórek została oznaczona na poziomie 24%. Izolat *P. pentosaceus* charakteryzował się także wysoką żywotnością po procesie liofilizacji i podczas przechowywania w temperaturach 4°C i -20°C przez okres 30 dni. Przeprowadzone doświadczenia *in vitro* wskazują na probiotyczne właściwości szczepu bakterii *P. pentosaceus* z możliwością zastosowania go jako dodatku paszowego dla świń, mając na celu poprawę efektywności hodowli oraz zwalczania patogenów.

OPRACOWANIE BIONAWOZÓW PRZEZNACZONYCH DO POPRAWY JAKOŚCI BIOLOGICZNEJ GLEB

Klaudia Dębiec-Andrzejewska¹, Marcin Musiałowski¹, Robert Stasiuk², Łucja Kowalewska³, Michał Styczyński¹, Monika Mierzwa-Hersztek⁴, Krzysztof Gondek⁴

¹ Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiskowej, Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Polska

² Zakład Geomikrobiologii, Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Polska

³ Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Polska

⁴ Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Polska

E-mail: klaudia.debiec@uw.edu.pl

Skład i aktywność mikrobioty glebowej odgrywają kluczową rolę zarówno w promowaniu wzrostu roślin, jak i ocenie potencjału remediacyjnego skażonych gleb. Jednym ze sposobów na poprawę stanu mikrobiomu glebowego jest odpowiednie nawożenie gleby. Obecna suplementacja gleby składnikami pokarmowymi jest nadal niewystarczająca ze względu na niską wydajność lub ograniczoną biodostępność składników odżywczych wprowadzanych z mineralnymi nawozami chemicznymi. Z tego powodu poszukiwane są stymulujące aktywność mikrobioty glebowej produkty nawozowe, które wpłynęłyby pozytywnie zarówno na ogólny stan roślin, jak i skuteczność bioremediacji skażonych gleb. W niniejszej pracy przedstawiona zostanie koncepcja opracowania niskonakładowych i przyjaznych środowisku organicznych biokomponentów nawozowych – syderoforów, stymulujących aktywność mikrobioty glebowej. Wyprodukowane biokomponenty zostaną wykorzystane jako suplementy poprawiające jakość dostępnych obecnie nawozów płynnych. W ramach projektu planowane jest (i) wytworzenie dwóch niezależnych bionawozów: do promowania wzrostu roślin oraz do zwiększania wydajności bioremediacji zanieczyszczonych gruntów, a także (ii) zaprojektowanie instalacji laboratoryjnej przeznaczonej do produkcji bionawozów. Projekt zakłada realizację 8 etapów badawczych, w skład których wchodzi zarówno badania aplikacyjne jak i rozwojowe. Do zadań aplikacyjnych należy (i) rozwój niskonakładowej technologii produkcji syderoforów, (ii) opracowanie dokładnego składu bionawozów, (iii) badanie ich fizycznej i chemicznej stabilności oraz (iv) weryfikacja ich właściwości w testach regeneracyjnych, wegetacyjnych i kolumnowych. Badania rozwojowe zakładają (i) produkcję biokomponentów w układzie ciągłym, (ii) konstrukcję prototypowej instalacji laboratoryjnej przeznaczonej do produkcji bionawozów oraz (iii) analizy rynkowe, związane z potencjalnym wprowadzaniem produktów na rynek. Końcowym rezultatem projektu będą wieloaspektowe biokomponenty i bionawozy, znajdujące zastosowanie w rolnictwie oraz przemyśle remediacyjnym.

Źródło finansowania: Projekt LIDER finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (Polska) - LIDER/13/0051/L-11/19/NCBR/2020

Prezentowana praca jest samodzielnym opracowaniem jej autora/autorów.

STRATEGIA OPRACOWANIA BIOKOMPONENTÓW OPARTYCH O BAKTERYJNE METABOLITY, ZNAJDUJĄCYCH ZASTOSOWANIE W PRODUKCJI NOWATORSKICH BIONAWOZÓW.

Marcin Musiałowski¹, Robert Stasiuk², Łucja Kowalewska³, Monika Mierzwa-Hersztek⁴, Krzysztof Gondek⁴, Klaudia Dębiec-Andrzejewska¹

¹ Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiskowej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Polska

² Zakład Geomikrobiologii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Polska

³ Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, Instytut Biologii Eksperymentalnej i Biotechnologii Roślin, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Polska

⁴ Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Polska

E-mail: m.musialowski@uw.edu.pl

Zapotrzebowanie na innowacyjne (bio)nawozy stale rośnie w nowoczesnym rolnictwie, ze względu na poszukiwanie bardziej zrównoważonych sposobów uprawy roślin oraz rosnące koszty konwencjonalnych technik nawożenia. Jednym ze sposobów tworzenia nowych wartościowych produktów jest wykorzystanie potencjału mikroorganizmów do opracowywania nowych nawozów. Zastosowanie w rolnictwie mogą znaleźć nie tylko preparaty zawierające żywe komórki bakteryjne, ale także nawozy oparte o produkowane przez mikroorganizmy metabolity, które dzięki zróżnicowanym właściwościom mogą wpływać na promowanie wzrostu roślin. Doskonałymi przykładami takich związków są produkowane przez mikroorganizmy związki chelatujące różne składniki pokarmowe. Dzięki zastosowaniu związków chelatujących możliwe jest zwiększenie biodostępności mikro- i makroelementów w glebie, co może wpływać pozytywnie na poprawę kondycji zarówno zamieszkującej ją mikrobioty, jak i rosnących w niej roślin. W niniejszej pracy przedstawiamy strategię, zastosowaną do opracowania biokomponentów zawierających chelatory pochodzenia mikrobiologicznego (biochelatory), które znajdują zastosowanie w projektowaniu nowatorskich bionawozów płynnych. W pierwszej kolejności przeprowadzono badania przesiewowe pod kątem identyfikacji bakterii wydajnie wytwarzających biochelatory, celem wytypowania mikroorganizmów o szczególnie dużym potencjale aplikacyjnym. Kolejnym krokiem była optymalizacja warunków hodowli w celu zwiększenia tempa i obniżenia kosztów produkcji biochelatorów. Zostało to osiągnięte dzięki doborowi odpowiednich składników pożywki (w szczególności różnych źródeł węgla i azotu), a także optymalnej temperatury hodowli (wykorzystanie mikroorganizmów psychrotolerancyjnych pozwoliło na hodowlę w niższych temperaturach i obniżenie zużycia energii). Następnie otrzymane biokomponenty oceniono pod kątem możliwości poprawy jakości biologicznej i chemicznej gleby, dzięki badaniu zmian liczebności i aktywności mikrobioty oraz biodostępności składników odżywczych w wyniku aplikacji biopreparatów.

Wreszcie, biochelatory zostały pomyślnie zweryfikowane w kontekście właściwości sprzyjających wzrostowi roślin. Uzyskane wyniki pozwoliły na opracowanie efektywnej strategii służącej do wytwarzania biokomponentów mogących służyć do produkcji nowatorskich bionawozów.

Źródło finansowania: Projekt LIDER finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (Polska) - LIDER/13/0051/L-11/19/NCBR/2020

Źródło finansowania: Projekt LIDER finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (Polska) - LIDER/13/0051/L-11/19/NCBR/2020

Prezentowana praca jest samodzielnym opracowaniem jej autora/autorów.

SYNTEZA FITOHORMONÓW (IAA I GA) ORAZ AKTYWNOŚĆ DEAMINAZY ACC W HODOWLACH SZCZEPÓW *TRICHODERMA* SPP. WYIZOLOWANYCH Z RYZOSFER RÓŻNYCH ROŚLIN

Renata Tyśkiewicz¹, Artur Nowak², Ewa Ozimek², Elżbieta Patkowska³, Jolanta Jaroszuk-Ścisiel²

¹ Laboratorium Analityczne, Sieć Badawcza Łukasiewicz, Instytut Nowych Syntezy Chemicznych w Puławach, Polska

² Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Polska

³ Katedra Ochrony Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Polska

E-mail: jolanta.jaroszuk-scisel@mail.umcs.pl

Saprotroficzne ryzosferowe grzyby Ascomycota z rodzaju *Trichoderma* mogą być składnikami najefektywniejszych biopreparatów stymulujących wzrost roślin. Preparaty takie powinny zawierać szczepy należące do różnych gatunków tego rodzaju i pochodzić z ryzosfer różnych roślin oraz posiadać zdolność do wytwarzania w różnych warunkach środowiskowych fitohormonów takich jak kwas indolilo-3-octowy (IAA), kwas giberelinowy (GA) oraz enzymu deaminazy kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksylowego (ACC), który ogranicza tworzenie etylenu przez rośliny. Celem badań było określenie potencjału stymulującego wzrost roślin 13 szczepów *Trichoderma* spp. wyizolowanych z ryzosfer czterech gatunków roślin (żyto, skorzonera, groch, fasola) zakwalifikowanych na podstawie analizy morfologicznej i genetycznej (ITS) do sześciu gatunków: *T. brevicompactum*, *T. citrinoviride*, *T. harzianum*, *T. koningiopsis*, *T. velutinum*, *T. virens*. W płynach uzyskanych w 2.-5. dniu hodowli inkubowanych w temperaturach 12, 20 i 28°C szczepów *Trichoderma* spp. na mineralnym podłożu RB z 1% glukozą i 3 mM aminokwasów metioniną i tryptofanem określono: (1) stężenie IAA metodą Pileta i Chollet [1970] zmodyfikowaną przez Glickmanna i Dessaux [1995] z użyciem odczynnika Salkowskiego na podstawie wartości absorbancji ($\lambda=530$ nm), (2) stężenie GA metodą Brucknera [1991], Hasana [2001] i Tiena [1979] po ekstrakcji octanem etylu, odparowaniu na wyparce próżniowej i rozpuszczeniu osadu w mieszaninie etanol:H₂SO₄ (90:10) na podstawie wartości absorbancji ($\lambda=254$ nm), (3) aktywność enzymu deaminazy (ACC) metodą Kumar i in. [2008] na podstawie spektrofotometrycznie ($\lambda=540$ nm) określonego stężenia α -ketomaślanu uwolnionego z ACC. Wartości te wyrażono w μ g odpowiednio IAA, GA, α -ketomaślanu w 1 ml płynu pohodowlanego i w przeliczeniu na μ g białka i g suchej masy grzybni. Wszystkie testowane szczepy *Trichoderma* spp., niezależnie od przynależności gatunkowej jak i miejsca izolacji, były zdolne do syntezy fitohormonów (IAA, GA) i deaminazy ACC, co było zależne od temperatury i obecności aminokwasów. Stężenia IAA było najwyższe w hodowlach z tryptofanem, stężenie GA wzrastało wraz ze wzrostem temperatury i biomasy grzybni, a aktywność deaminazy ACC była najwyższa w obecności metioniny. Z najefektywniejszych pod tym względem szczepów można skomponować wielogatunkowy preparat do opłaszczania nasion lub podlewania korzeni silnie stymulujący wzrost roślin

CECHY GRZYBÓW *ASPERGILLUS (PHIALOSIMPLEX) SALINARUS*, WYIZOLOWANYCH Z POWIETRZA KOPALNI SOLI BOCHNIA

Dominika Drzewiecka¹, Karolina Banaszczyk¹, Martyna Jakubczak¹, Przemysław Bernat²

¹ Katedra Biologii Bakterii, Uniwersytet Łódzki, Polska

² Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Uniwersytet Łódzki, Polska

E-mail: dominika.drzewiecka@biol.uni.lodz.pl

Kopalnia Soli Bochnia jest unikalnym środowiskiem zasolonym, którego naturalna mikroflora nie została jeszcze poznana. Zbadanie występujących w Kopalni drobnoustrojów słonolubnych może mieć znaczenie nie tylko poznawcze, ale też praktyczne. Celem badań była analiza cech grzybów strzępkowych zaliczonych do gatunku *Aspergillus (Phialosimplex) salinarus*, wyizolowanych z powietrza Kopalni Soli Bochnia. Ten nowo opisany gatunek wykryto niedawno w kopalni soli w Niemczech. Zakres tolerancji i optimum zasolenia określono metodą hodowli na podłożach Sabouraud, zawierających 0-30% NaCl, zakres i optimum temperatury – metodą hodowli na podłożach Sabouraud z dodatkiem 15% NaCl w zakresie 4-37°C. Zdolności do rozkładu wybranych wielocukrów, lipidów i białek zbadano w optymalnych warunkach hodowli na podłożach stałych Sabouraud. Zanalizowano także zawartość kwasów tłuszczowych w błonach komórkowych techniką chromatografii gazowej ze spektrometrią mas. Badane grzyby są halofilami, wymagającymi soli do wzrostu (5-30%), przy czym największą biomasę uzyskano w stężeniach NaCl 10-20%. Powolny wzrost obserwowano w zakresie 4-28°C, optymalna temperatura to 28°C, stwierdzono brak wzrostu w temperaturze 37°C. Grzyby wykazały cechy proteo- i amylolityczne oraz słabe lipolityczne. Analiza chromatograficzna pokazała, że w ich błonach komórkowych najliczniej występują kwas palmitynowy oraz kwasy osiemnastowęglowe nasycone i nienasycone, a profil kwasów tłuszczowych jest charakterystyczny dla workowców. Wykazano wpływ zasolenia i temperatury na zawartość kwasów tłuszczowych w błonach komórkowych, co może być wyrazem przystosowania badanych grzybów do warunków tego nietypowego środowiska życia, jakim jest Kopalnia Soli Bochnia (wysokie zasolenie, temperatura ok. 13°C). Cecha halofilności jest dość rzadka wśród grzybów, które nawet jeśli tolerują wysokie stężenia NaCl, to najczęściej nie wymagają obecności soli do wzrostu. Uzyskane wyniki rozszerzają wiedzę na temat niedawno odkrytego gatunku grzybów halofilnych *A. salinarus*, zamieszkujących Kopalnię Soli Bochnia.

IZOLACJA I ANALIZA LEKOOPORNYCH PAŁECZEK GRAM-UJEMNYCH BYTUJĄCYCH W WARSZAWSKICH JEZIORACH

Agnieszka E. Laudy¹, Klaudia Ćwiąkała¹, Aleksandra Moszczyńska¹, Daria Dąbrowska¹

¹ Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska

E-mail: alaudy@wum.edu.pl

Powszechne używanie antybiotyków w lecznictwie otwartym, w weterynarii, w hodowli zwierząt i ryb oraz w rolnictwie powoduje, że szczepy środowiskowe coraz częściej nabywają oporność na antybiotyki. W ostatnich latach wykazano wzrost liczby lekoopornych izolatów bytujących w systemach rzecznych i jeziorach. W pracy badano wodę z trzech rekreacyjnych jezior na terenie Warszawy: Jeziora Czerniakowskiego (A), Jeziora Kamionkowskiego (B) oraz Glinianek Szczęśliwickich (C). Próbki wody pobrano w październiku 2019r. i następnie w tych samych miejscach w lipcu 2020 r. Izolację bakterii prowadzono metodą filtracji, a następnie kilkakrotnie przesiewając otrzymane hodowle na podłoża agarowe w obecności antybiotyków. Lekowrażliwość oznaczano metodą krążkowo-dyfuzyjną według zaleceń CLSI. Identyfikację izolatów prowadzono w systemie VITEK2. Zdolność wytwarzania indukcyjnych cefalosporynaz, enzymów ESBL, oraz karbapenemaz typu OXA-48 wykonano metodami fenotypowymi zgodnie z zaleceniami KORLD. W wodzie ze wszystkich badanych jezior stwierdzono obecność pałeczek Gram-ujemnych opornych na różne grupy antybiotyków, w tym na β -laktamy, aminoglikozydy, cyprofloksacynę, tetracyklinę, nitrofurantoinę i kolistynę. Najmniej liczną grupę stanowiły izolaty odporne na karbapenemy lub cyprofloksacynę. Lekooporne izolaty należały głównie do Gram-ujemnych pałeczek niefermentujących. Większość izolatów opornych na β -laktamy (w tym cefalosporyny III i IV generacji, monobaktamy oraz karbapenemy) należało do gatunku *Stenotrophomonas maltophilia*. Ponadto były to także izolaty *Myroides* spp. Izolaty *S. maltophilia* pochodziły z wód z trzech badanych jezior, jednak najliczniej występowały w jeziorach A i B. W testach fenotypowych otrzymano dla nich obraz charakterystyczny dla szczepów wytwarzających enzymy ESBL. W jeziorze B wykryto izolaty *Rhizobium radiobacter*, *Serratia rubideae* i *Pantoea* spp., które także prezentowały fenotypowy obraz szczepów ESBL(+). Natomiast z jeziora A wyizolowano *Chryseobacterium indologenes* odporne na karbapenemy (meropenem i imipenem). Zdolność wytwarzania indukcyjnych cefalosporynaz zaobserwowano u izolatów *Burkholderia cepacia* complex z jeziora A oraz *Pseudomonas fluorescens* z jeziora C. Stwierdzone występowanie wielolekoopornych pałeczek Gram-ujemnych w rekreacyjnych jeziorach warszawskich stanowi potencjalne niebezpieczeństwo dla ludzi i zwierząt.

Źródło finansowania: środki Fundacji Rozwoju Diagnostyki i Terapii w Warszawie (NIP: 5262173856, KRS: 0000195643).

BIORÓŻNORODNOŚĆ I POTENCJAŁ BIOTECHNOLOGICZNY DROŹDŹY WYIZOLOWANYCH Z PRÓB WODY Z MORZA BAŁTYCKIEGO

Marta Wanarska¹, Ewa Zienkiewicz¹, Hubert Cieśliński¹

¹ Wydział Chemiczny, Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii, Politechnika Gdańska, Polska

E-mail: marta.wanarska@pg.edu.pl

Mikroorganizmy ekstremofilne, w tym żyjące w niskiej temperaturze psychrofile i psychrotoleranty, stanowią bogate źródło cennych biomolekuł. Obecnie, najwięcej badań dotyczy enzymów pochodzących z zimnolubnych bakterii, najczęściej izolowanych z próbek gleby pobranych w Arktyce, Antarktyce oraz na terenach wysokogórskich. Jednakże, drożdże i grzyby drożdżopodobne zaadaptowane do życia w niskiej temperaturze to także producenci wielu enzymów o znaczeniu przemysłowym, a ponadto lipidów zawierających nienasycone kwasy tłuszczowe, trehalozy, zewnątrzkomórkowych polisacharydów, czy naturalnych barwników. Celem pracy była charakterystyka i ocena potencjału biotechnologicznego drożdży wyizolowanych z wody morskiej. Z próbek wody pobranych w strefie brzegowej Morza Bałtyckiego otrzymano 19 izolatów drożdży. Wyizolowane mikroorganizmy uznano za psychrotolerancyjne, gdyż wszystkie rosły w zakresie temperatury 4-18 °C, natomiast żaden nie rósł w 37 °C. Ponadto, większość izolatów wykazywała słaby wzrost w 30 °C. Na podstawie wyników testu DBB, cztery izolaty drożdży przyporządkowano do gromady Ascomycota, a 15 do gromady Basidiomycota. Izolaty z gromady Ascomycota należały do rodzajów *Candida* i *Tetracladium*, natomiast drożdże Basidiomycota sklasyfikowano jako *Cryptococcus* i *Rhodotorula*. Cechy biochemiczne mikroorganizmów, takie jak asymilacja różnych związków węgla czy aktywność enzymatyczna, badano z wykorzystaniem testów API firmy bioMérieux: API Candida, API 20 C AUX i API ZYM. Izolat *Tetracladium* sp. B4(4) wykazywał silną aktywność β -glukozydazy, a *Cryptococcus* sp. B5(5) aktywność fosfatazy alkalicznej. Szesnaście badanych izolatów drożdży miało aktywność proteolityczną na podłożu agarowym z dodatkiem mleka, przy czym najsilniejszą charakteryzował się *Cryptococcus* sp. B5(5). *Tetracladium* sp. B4(4) to potencjalne źródło naturalnego pomarańczowego barwnika. Natomiast izolat B8(5), sklasyfikowany jako *Candida santamariae*, testowano pod kątem przydatności do konstrukcji nowego drożdżowego systemu ekspresji heterologicznych genów. Uzyskane wyniki wskazują, że eukariotyczne mikroorganizmy morskie to ciekawe obiekty badań zarówno podstawowych, jak i aplikacyjnych.

Źródło finansowania: projekt pt. „Nowa, zintegrowana platforma produkcji i oczyszczania białek rekombinantowych w oparciu o komórki drożdżowe”, PBS1, NCBiR

OPTIMALIZACJA PROCESU PRODUKCJI PIOCYJANINY Z WYKORZYSTANIEM NANOCZĄSTEK TLENKU CYNKU

Joanna Jabłońska¹, Kamila Dubrowska¹, Adrian Augustyniak¹, Maciej Konopacki¹, Rafał Rakoczy¹

¹ Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Polska

E-mail: joanna_jablonska@zut.edu.pl

Nanomateriały, szczególnie nanometryczne tlenki metali, znane są ze swoich właściwości bakteriobójczych i bakteriostatycznych. Z drugiej strony, możliwe jest ich zastosowanie w roli stymulatorów wybranych bioprocessów. Jednym z przykładów modulacji fizjologii bakterii przez nanomateriały może być produkcja piocyjaniny przez *Pseudomonas aeruginosa* wspomagana dodatkiem nanocząstek tlenku cynku. Piocyjanina jest znanym czynnikiem wirulencji, jednakże dzięki unikalnym właściwościom wykazuje potencjał do zastosowania w wielu dziedzinach techniki i w medycynie. Ze względu na wysoki koszt wytwarzania piocyjaniny optymalizacja procesu produkcji tego barwnika jest pożądana. Nanomateriały mogą w tym wypadku służyć jako stymulatory zwiększające wydajność bioprocessu. Stąd celem badań była optymalizacja temperatury procesu i stężenia nanocząstek tlenku cynku do wydajnej produkcji piocyjaniny przez *P. aeruginosa* ATCC® 27853™.

Badania obejmowały stężenia tlenku cynku w zakresie 0,00 – 500,00 µg/mL oraz zakres temperatur od 32,0°C do 40,8°C. Plan eksperymentów został opracowany z wykorzystaniem metody DoE (ang. Design of Experiment) i uwzględniał zmiany temperatury i stężenia nanocząstek jako czynniki wejściowe oraz stężenie piocyjaniny i ilość suchej biomasy jako czynniki wyjściowe. Hodowla była prowadzona przez 48 i 72 godziny w pożywce King A bez mieszania. Stężenie piocyjaniny było badane za pomocą ekstrakcji chloroformem i HCl oraz pomiaru absorbancji ekstraktu ($\lambda=520$ nm). Na podstawie otrzymanych wyników opracowany został model matematyczny, który pozwolił na określenie optymalnych parametrów prowadzenia procesu.

Stwierdzono, że zarówno temperatura, jak i stężenie nanocząstek tlenku cynku istotnie wpływają na produkcję piocyjaniny. Niskie stężenie nanocząstek i niska temperatura stymulowały produkcję piocyjaniny, natomiast wysoka temperatura procesu i wysokie stężenie nanocząstek prowadziły do redukcji wytwarzania barwnika. Przeprowadzone badania pozwoliły na wyznaczenie optymalnych warunków produkcji piocyjaniny przez *P. aeruginosa* ATCC® 27854™ z wykorzystaniem nanocząstek tlenku cynku.

Źródło finansowania: PRELUDIUM 20 (2021/41/N/ST8/01094) pt. „Wpływ stresorów na produkcję piocyjaniny przez Pseudomonas aeruginosa”.

IDENTYFIKACJA I CHARAKTERYSTYKA RHIZOBIOFAGOWEJ DEPOLIMERAZY EGZOPOLISACHARYDU

Aleksandra Horbowicz¹, Małgorzata Marczak¹, Monika Marek-Kozaczuk¹, Sylwia Wdowiak-Wróbel¹, Piotr Koper¹, Michał Kalita¹, Wojciech Sokołowski¹, Dorota Stańczuk¹

¹ Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Polska

E-mail: aleksandra.horbowicz96@gmail.com

Bakteriofagi należą do najbardziej rozpowszechnionych i zróżnicowanych genetycznie tworów na Ziemi. Ze względu na fakt, iż ich cykl rozwojowy wymaga zainfekowania komórki bakteryjnej, jak również sposobów na opuszczenie jej przez fagi potomne, są one wyposażone w szereg enzymów umożliwiających ten proces. Należą do nich enzymy kodowane w genomie faga jak holiny i endolizyny, jak również będące częścią wirionu jak depolimerazy polisacharydów. Te ostatnie należą do grupy enzymów o zróżnicowanej specyficzności substratowej i mechanizmach degradacji wiązań. Głównym celem badań była charakterystyka depolimerazy egzopolisacharydu faga Φ7B specyficznego wobec bakterii *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. Sekwencjonowanie genomu faga umożliwiło identyfikację genu kodującego hipotetyczną depolimerazę. Wybrany gen został sklonowany do wektora ekspresyjnego, a rekombinowane białko o masie ok. 130kDa zaopatrzone w etykietę histydynową (6xHis) oczyszczono na złożu niklowym. Aktywność i specyficzność enzymu w finalnym preparacie badano z wykorzystaniem wybranych szczepów bakterii z rodzaju *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* i *Sinorhizobium*. Preparat enzymatyczny nakraplano na murawy bakteryjne z widoczną produkcją śluzu, wyrosłe w podłożu stałym. Aktywność enzymatyczną obserwowaną jako widoczna strefa rozkładu warstwy egzopolisacharydu odnotowano tylko dla *R. pisi* sv. *trifolii* K3.22, szczepów *R. leguminosarum* bv. *trifolii* i *R. leguminosarum* bv. *viciae*. Enzym wykazuje zatem bardzo dużą specyficzność wobec polisacharydów produkowanych przez spokrewnione bakterie. Specyficzność ta najprawdopodobniej zależy od składu cukrowego i typu wiązań w łańcuchu głównym, nie zależy natomiast od budowy łańcucha bocznego EPS, gdyż w mutantach delecyjnych dla genów kodujących glikozylotransferazy zaangażowane w jego syntezę, depolimeraza wykazuje aktywność porównywalną ze szczepem dzikim *R. leguminosarum* bv. *trifolii* TA1. W dalszej perspektywie planowane jest wykorzystanie depolimerazy w badaniach strukturalnych egzopolisacharydu *R. leguminosarum* oraz nad potencjalnym wykorzystaniem tych enzymów w różnych gałęziach działalności człowieka.

Finansowanie: Wewnętrzny projekt dla zespołu badawczego w Instytucie Nauk Biologicznych UMCS 2021-2022; Projekt NCN OPUS nr 2017/27/B/NZ9/01849

DYNAMIKA I ZŁOŻONOŚĆ WSPÓLNOT MIKROORGANIZMÓW PRODUKUJĄCYCH BOWODÓR I BIOMETAN W UKŁADZIE DWUSTOPNIOWYM

Anna Detman¹, Daniel Laubitz², Stefano Campanaro³, Michał Bucha⁴, Aleksandra Chojnacka⁵, Anna Sikora¹

¹ Pracownia Białej Biotechnologii, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Polska

² Klinika Pediatrii, Uniwersytet Arizony, Polska

³ Zakład Biologii, Uniwersytet Padewski, Polska

⁴ Instytut Geologii, Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk o Ziemi i Kształtowania Środowiska, Polska

⁵ Instytut Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Polska

E-mail: annadetman@ibb.waw.pl

Biopaliwa gazowe, bio- H_2 i bio- CH_4 są produktami rozkładu biomasy przez mikroorganizmy w warunkach beztlenowych. Wyróżnia się następujące po sobie etapy: hydrolizę i kwasogenezę, gdzie w wyniku ciemnej fermentacji powstaje bio- H_2 jako produkt pośredni oraz octanogenezę i metanogenezę, których produktem końcowym jest bio- CH_4 . W IBB PAN opracowaliśmy dwustopniowy układ mikrobiologicznej produkcji H_2 i CH_4 w skali laboratoryjnej. We współpracy z Krajową Grupą Spożywczą na terenie Cukrowni Dobrzelin powstały dwie dwuetapowe instalacje w skalach ułamkowej i półtechnicznej. Celem naszych prac jest dokładne poznanie procesów na podłożu molekularnym oraz aspektów technicznych istotnych dla optymalizacji produkcji H_2 i CH_4 .

KWASOGENEZA: obiektem badań były hodowle wspólnot bakterii ciemnej fermentacji (WCF) w bioreaktorach ze złożem upakowanym PBR (Packed Bed Reactor) produkujące H_2 z różną wydajnością. Analiza niegazowych produktów fermentacji oraz WCF wyselekcjonowanych w bioreaktorach dowiodła, że równowaga pomiędzy bakteriami kwasu mlekowego i produkującymi maślan we wspólnotach bakterii oraz pH środowiska są kluczowe dla procesu transformacji mleczanu i octanu do maślanu i H_2 . Szlak ten stymuluje efektywne pozyskiwanie H_2 metodą mikrobiologiczną. Niskie pH i mniejsza bioróżnorodność WCF skutkują dominacją mleczanu i etanolu w produktach fermentacji. Źródło inokulum, konstrukcja bioreaktora, rodzaj złoża, stężenie substratu i czas retencji, są kluczowymi czynnikami dla wydajności i stabilności procesu.

OCTANOGENEZA: obiekt badań stanowiły cztery hodowle konsorcjów metanogennych w bioreaktorach UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), pracujące przez ~128 tygodni. Substrat stanowiły sztuczne podłoża imitujące mieszaninę niegazowych produktów różnych typów fermentacji kwaśnych z dominacją jednego z nich: mleczanu, maślanu, propionianu lub octanu. Analiza wykazała, że niegazowe produkty fermentacji kwaśnej głównie wpływają na szlaki syntezy CH_4 niż końcowy efekt metanogenezy. Analizy izotopów trwałych węgla C^{13} w biogazie dowiodły, że substraty bogate w octan i mleczan warunkują szlak

acetotroficzny, a w propionian i maślan szlak hydrogenotroficzny syntezy CH_4 . W bioreaktorach zidentyfikowano 234 MAGs (Metagenome-Assembled-Genome) większość nich to nowe gatunki. Analizując MAGs wspólne i specyficzne dla substratów, wnioskujemy, że substrat może w pierwszej kolejności zmieniać aktywność metaboliczną mikroorganizmów niż skład konsorcjów metanogennych.

IZOLACJA SZCZEPÓW WIELOLEKOOPORNYCH W OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW SWS SWARZEWO

Bartosz Rybak¹, Lidia Wolska¹

¹ Zakład Toksykologii Środowiska, Gdański Uniwersytet Medyczny, Polska

E-mail: brybak@gumed.edu.pl

W środowisku pozaszpitalnym wzrasta częstość występowania szczepów wielolekoopornych (MDR) w skutek stosowania leków przeciwbakteryjnych w lecznictwie pozaszpitalnym, weterynaryjnym i intensywnej hodowli zwierząt. Celem badania była analiza występowania szczepów MDR w ściekach. Oczyszczalnia ścieków w Swarzewie jest oczyszczalnią mechaniczno-biologiczno-chemiczną, gdzie ścieki są oczyszczane wieloetapowo. Próbkę pobierano od kwietnia do czerwca 2021r. Próbkę pobierano z wybranych etapów ciągu technologicznego oczyszczalni: kolektora surowych ścieków, reaktora biologicznego z osadem czynnym, stawów stabilizacyjnych oraz kolektora zrzutowego. W analizowanym okresie oczyszczalnia przyjmowała ok. 5 000 m³ ścieków dziennie z 11 okolicznych miejscowości. W badanych próbkach wykonano oznaczenie Najbardziej Prawdopodobnej Liczby (NPL) bakterii coli, *E. coli* i bakterii z rodzaju *Clostridium* odpowiednio na podłożach LMX Chromocult i DRCM (Merck) oraz wysiewano je na podłoża ESBL Chromagar, KPC Chromagar (GRASO Biotech) w celu oznaczenia liczby szczepów MDR. NPL coli i *E. coli* w surowych ściekach wyniosło $>2,4 \cdot 10^7$ NPL/100ml a miano *Clostridium* $1,07 \cdot 10^6$ NPL/100ml. W ściekach surowych przed oczyszczeniem ilość szczepów *E. coli* odpornej na ESBL wyniosła $1,8 \cdot 10^4$ j.t.k/ml a szczepów MDR z grupy KESC wyniosła $1,9 \cdot 10^3$ j.t.k/ml. Na podłożach KPC Chromagar zaobserwowano wzrost kolonii charakterystycznych dla *E. coli* i bakterii z gr KESC w mianie $2 \cdot 10^3$ j.t.k/ml. Na kolejnych etapach oczyszczania ścieków obserwowano redukcję miana bakterii z gr coli, *E. coli* oraz szczepów *E. coli* na podłożu ESBL Chromagar i KPC Chromagar. W ostatni etapie procesu oczyszczania ścieków czyli w wodzie odprowadzanej do morza NPL coli i *E. coli* oraz *Clostridium* wyniosło odpowiednio $9,6 \cdot 10^6$, $5,2 \cdot 10^6$ i $1,4 \cdot 10^6$ NPL/100ml, ale nie stwierdzono wzrostu na podłożu ESBL Chromagar i KPC Chromagar. Po etapach oczyszczania biologicznego na podłożach ESBL Chromagar nie obserwowano wzrostu charakterystycznych kolonii dla *E. coli* natomiast w wodzie z osadników stwierdzono wzrost kolonii bakterii z gr KESC, które zidentyfikowano jako *Serratia fonticola* i potwierdzono wytwarzanie betalaktamaz ESBL. Stwierdzono wysoki poziom *E. coli* ESBL w surowych ściekach pomimo nie występowania w okolicy dużych ośrodków opieki medycznej. W wodach odprowadzanych z oczyszczalni do morza istnieje prawdopodobieństwo występowania szczepów ESBL z innych gatunków niż *E. coli*, które występowały w ostatnich osadnikach.

WPŁYW INTENSYWNOŚCI MIESZANIA I TEMPERATURY NA PRODUKCJĘ RAMNOLIPIDÓW WYTWARZANYCH PRZEZ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Kamila Dubrowska¹, Joanna Jabłońska¹, Adrian Augustyniak¹, Rafał Rakoczy¹

¹ Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Polska

E-mail: kamila.dubrowska@zut.edu.pl

Ramnolipidy są związkami powierzchniowo czynnymi produkowanymi m.in. przez *Pseudomonas aeruginosa*. Ze względu na swoje unikalne właściwości tj., łatwość biodegradacji, niską toksyczność, stosunkowo niskie krytyczne stężenie micelizacji oraz działanie przeciwdrobnoustrojowe, są coraz chętniej wykorzystywane w przemyśle. Ramnolipidy cieszą się bardzo dużym zainteresowaniem w kosmetologii, gdzie stosowane są jako detergenty, środki zwilżające, emulsyfikatory, a także konserwanty. Największym czynnikiem limitującym ich przemysłowe zastosowanie są koszty ich produkcji. W związku z tym poszukiwane są sposoby zwiększenia efektywności wytwarzania ramnolipidów. Dlatego celem pracy było określenie wpływu parametrów procesowych na produkcję biomasy bakteryjnej oraz wytwarzanie ramnolipidów i określenie ich właściwości. W badaniach wykorzystano szczep *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®9027™. Wyznaczenie planu eksperymentu przeprowadzono w oparciu o metodologię DoE (ang. Design of Experiment). Następnie wykorzystano metodę RSM (ang. Response Surface Methodology), pozwalającą na określenie optymalnych wartości badanych czynników (temperatury i intensywności mieszania). Badania przeprowadzono w zakresach od 28,0°C do 40,9°C dla temperatury oraz od 50 rpm do 439 rpm dla intensywności mieszania w bioreaktorach Biosan RTS-1C. Hodowle były prowadzone przez 72h. Zbadano stężenie ramnolipidów za pomocą metody kolorymetrycznej z wykorzystaniem błękitu metylenowego. Określano także właściwości fizykochemiczne ramnolipidów poprzez wyznaczenie indeksu emulsyfikacji, zastosowanie metody opadającej kropli i test dyspersji olejów. Sprawdzone również właściwości przeciwbakteryjne z wykorzystaniem metody dyfuzyjno-krążkowej. Na podstawie uzyskanych wyników potwierdzono wpływ temperatury oraz mieszania na produkcję biomasy bakteryjnej i ich powiązanie z intensywnością wytwarzania ramnolipidów. Najwyższy współczynnik wzrostu drobnoustrojów wyznaczono dla najwyższej intensywności mieszania i temperatury. Stwierdzono także, że modulacja warunków hodowli może wpływać na właściwości fizykochemiczne i przeciwdrobnoustrojowe ramnolipidów. Uzyskane wyniki badań pozwoliły na optymalizację procesu produkcji. Ponadto opisano zmiany właściwości produkowanych ramnolipidów w zależności od parametrów hodowli.

Źródło finansowania: Pracę wykonano w ramach Grantu Rektora dla Doktorantów Szkoły Doktorskiej w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym w Szczecinie nr ZUT/31/2022

IDENTYFIKACJA I CHARAKTERYSTYKA FAGÓW SPECYFICZNYCH DLA *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *TRIFOLII*

Małgorzata Marczak¹, Monika Marek-Kozaczuk¹, Piotr Koper¹, Wojciech Sokołowski², Sylwia Wdowiak-Wróbel¹, Aleksandra Horbowicz², Michał Kalita¹, Dorota Stańczuk¹

¹ Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Polska

² Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych UMCS, Polska

E-mail: malgorzata.marczak@mail.umcs.pl

Rizobiofagi mają duży wpływ na dynamikę populacji w środowisku ryzosfery, zmieniając względną liczbę opornych i podatnych szczepów rizobiów w glebie. Fagi produkują szereg enzymów niezbędnych w procesie infekcji komórki gospodarza. Część z tych enzymów charakteryzuje się wyjątkowymi właściwościami typowymi tylko dla białek wirusowych, przez co mają potencjał biotechnologiczny. Sekwencjonowanie genomów fagów umożliwia identyfikację genów kodujących takie specyficzne enzymy zaangażowane w proces infekcji (np. lizyny, depolimerazy polisacharydów), enzymy niezbędne w procesie integracji z chromosomem bakterii (integrazy) oraz metylotransferazy, które modyfikują materiał genetyczny. Badaniami w niniejszej pracy objęto bakteriofagi wyizolowane z ryzosfery koniczyny *Trifolium pratense* L. cv. Dajana. Analiza elektronomikroskopowa pozwoliła ustalić, że reprezentują one grupę fagów ogonkowych, których główka wykazuje ikozaedralną symetrię. Ustalono, że zakres gospodarza analizowanych bakteriofagów ogranicza się do gatunku *Rhizobium leguminosarum*. Stwierdzono, że wszystkie badane fagi były stabilne w zakresie temperatur 20–28°C, a wyższe temperatury powodowały spadek liczby cząstek fagowych. Ustalono, że badane rizobiofagi były bardziej wrażliwe na wysoki odczyn pH, niż niski. Badanie charakteru receptora fagowego wskazuje na jego mieszany charakter białkowo - LPS. Precyzyjne ustalenie jakości receptora badanych fagów będzie możliwe dzięki sekwencjonowaniu genomu mutantów transpozonowych pochodnych szczepu *R. leguminosarum* bv. *trifolii* TA1 wykazujących całkowitą oporność na infekcję. Analiza DNA genomowego fagów przy użyciu enzymów restrykcyjnych wykazała, że jest ono wysoce odporne na ich działanie, co sugerowało, że DNA jest hipermetylowane lub bogate w nietypowe nukleotydy. Sekwencjonowanie genomów fagowych przeprowadzono komercyjnie w oparciu o technologię Illumina. Genomy poddano zaadnotowaniu z użyciem aplikacji multiPhate2, która pozwala na analizę genomu faga jednocześnie za pośrednictwem wielu programów do automatycznych adnotacji i względem wielu publicznie dostępnych baz danych sekwencji fagowych. Analiza sekwencji genomów pozwoliła między innymi zidentyfikować geny kodujące hipotetyczne endolizyny, depolimerazy polisacharydów oraz metylotransferazy. Planowane są dalsze badania nad charakterystyką i potencjalnym zastosowaniem wybranych enzymów w biotechnologii.

MONITOROWANIE BIOAUGMENTOWANYCH KULTUR MIESZANYCH PRODUKUJĄCYCH KRÓTKO I ŚREDNIOŁAŃCUCHOWE KWASY TŁUSZCZOWE Z GLIEROLU

Anna Duber¹, Roman Zagrodnik², Natalia Gutowska¹, Wojciech Juzwa³, Piotr Oleśkowicz-Popiel¹

¹ Zakład Zaopatrzenia w Wodę i Biogospodarki, Politechnika Poznańska, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Instytut Inżynierii Środowiska i Instalacji Budowlanych, Polska

² Zakład Technologii Chemicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

³ Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Polska

E-mail: anna.duber@put.poznan.pl

Konsorcja mikroorganizmów naturalnie występujące w środowisku to tzw. kultury otwarte (mieszane), które można kształtować w warunkach laboratoryjnych w procesach fermentacji do produkcji związków atrakcyjnych przemysłowo, takich jak krótko i średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe i inne biochemikalia. Kulturę mieszaną kształtuje się poprzez działania w zakresie warunków operacyjnych procesu dążących do tzw. wzbogacenia kultury. Dodatkowo, metodą sterowania procesem może być tzw. bioaugmentacja, czyli technika polegająca na zaszczerpieniu kultury reaktora wyselekcjonowanym szczepem lub określoną grupą szczepów w celu zwiększenia wydajności procesu produkcji określonego metabolitu. Celem badań było przeprowadzenie procesu fermentacji kultur otwartych bioaugmentowanych wybranymi czystymi szczepami do produkcji krótko i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Istotnym elementem badań było monitorowanie wprowadzonych szczepów do kultury mieszanej i zbadanie jej wpływu na proces produkcji oraz kształtowanie się kultury otwartej mikrobiomu. Monitorowanie utrzymywania się bioaugmentowanego szczepu jest niezwykle ważne do oceny jego przydatności i wpływu na proces produkcji jak i samo kształtowanie się kultury mieszanej. Procesy fermentacji prowadzono w trybie okresowym (55 ml ww.) w temp. 37°C, w pH początkowym 7, gdzie substratami były kwas mlekowy i laktoza (LL) oraz glicerol (G). Kultura mieszaną użytą do inokulacji pochodziła z reaktora gdzie produkowano kwasy tłuszczowe. Szczepy użyte do bioaugmentacji to *Megasphaera elsdenii* i *Eubacterium limosum*. Procesy ciągłe prowadzono w reaktorach o obj. roboczej 520 ml wykorzystując kulturę *M. elsdenii* oraz kulturę mieszaną. Analizę produktów wykonano za pomocą metod chromatograficznych. Analizę mikrobiomu przeprowadzono za pomocą sekwencjonowania metagenomowego oraz cytometrii przepływowej. Wyniki wykazały, że bioaugmentacja szczepem *M. elsdenii* oraz *M. elsdenii* + *E. limosum* prowadzi do wzrostu produkcji kwasu izowalerianowego z LL. Największą produkcję kwasu kapronowego odnotowano w reaktorach zaszczerpionych kulturą *M. elsdenii* z użyciem glicerolu. Mimo, że obecność *M. elsdenii* nie poprawiła produkcji kwasu kapronowego z LL, jednoczesna bioaugmentacja obydwoma wspomnianymi szczepami zwiększyła produkcję tego kwasu z glicerolu. W próbie kontrolnej z *E. limosum* hodowanym na glicerolu zaobserwowano najwyższą produkcję kwasu kaprylowego.

Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki, nr kontraktu: 2017/25/N/ST8/01795.

AKTYWNOŚĆ METABOLICZNA GLEBOWYCH ZBIOROWISK MIKROORGANIZMÓW- WPŁYW GŁĘBOKOŚCI I PROCESÓW GLEBOTWÓRCZYCH

Agata Gryta¹, Magdalena Frąć¹, Anna Piotrowska-Długosz²

¹ Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Polska

² Katedra Biogeochemii i Gleboznawstwa, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Politechnika Bydgoska, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz, Polska

E-mail: a.gryta@ipan.lublin.pl

Aktywność metaboliczna mikroorganizmów zasiedlających gleby to jeden z czynników kształtujących właściwości środowiska glebowego. Mikrobiom glebowy warunkuje funkcjonowanie środowiska glebowego poprzez kształtowanie struktury gleby, przemiany materii organicznej oraz udostępnianie roślinom składników pokarmowych. Aktywność metaboliczna glebowych mikroorganizmów zależy od wielu czynników m.in. wilgotności, temperatury, poziomu natlenienia, potencjału oksydo-redukcyjnego, rozmieszczenia systemu korzeniowego roślin czy zawartości materii organicznej, jak również od procesów glebotwórczych, zachodzących w głębszych poziomach genetycznych profilu glebowego. Przeprowadzone badania miały na celu określenie aktywności metabolicznej zbiorowisk mikroorganizmów w glebie w zależności od głębokości profilu glebowego oraz procesów glebotwórczych. Aktywność metaboliczną określono wykorzystując płytki BIOLOG ECO Plates, które umożliwiają ocenę profilu metabolicznego na podstawie stopnia wykorzystania różnych źródeł węgla umieszczonych w dołkach płytki. Poziom zużycia substratów węglowych oceniono na podstawie pomiarów absorpcji ($\lambda=590\text{nm}$) w odstępach 24 godzinnych. Gleby wybrane do badań różniły się procesami glebotwórczymi, przebadano następujące profile glebowe: Haplic Luvisols, Albic Eutric Stagnosols, Mollic Stagnic Gleysols, Cutanic Luvisols. Aktywność metaboliczna poziomów podpowierzchniowych wszystkich profili charakteryzowała się wysokim poziomem utleniania substratów węglowych. Ponadto poziomy (Eet1 i Bt1) zawierające frakcję ilastą, która jest istotnym czynnikiem kształtującym aktywność mikroorganizmów oraz jest związana z procesem płowienia wykazały dużą aktywność mikrobiologiczną dla D-mannitolu, kwasu 4-hydroksybenzoesowego, kwasu D-glukozaminowego, kwasu hydroksymasłowego i estru metylowego kwasu pirogronowego. Najniższą aktywność metaboliczną odnotowano w najgłębiej położonych warstwach każdego profilu, a głównym powodem uzyskanych wyników są warunki redukcyjne, panujące na testowanych głębokościach, gdzie występowała prawie wyłącznie skała macierzysta. Procesy glejowe w poziomach Cg3 i 3G2 wpływały na wykorzystanie substratów zwiększając metabolizm: Tween-40, Tween-80 oraz glikogenu i D-ksylozy. Obserwowane preferencje dotyczące metabolizmu źródeł węgla przez zbiorowiska mikroorganizmów glebowych zależały od rodzaju profilu glebowego oraz od badanej głębokości gleby.

Praca sfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki, Opus 15, 2018/29/B/NZ9/00982

WPŁYW STOSOWANIA BIOPREPARATU NATURALIZACYJNEGO NA RÓŻNORODNOŚĆ FUNKCJONALNĄ MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH NA EKOLOGICZNEJ PLANTACJI MALIN

Michał Pylak¹, Karolina Oszust Oszust¹, Magdalena Frąć¹

¹ Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina, Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Polska

E-mail: mpylak@ipan.lublin.pl

Typowe rozwiązania stosowane w rolnictwie mogą powodować wyjaławianie gleb, zmniejszenie ilości materii organicznej oraz zmniejszenie bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych. Ograniczenie tego procesu to jeden z głównych celów Strategii na rzecz Bioróżnorodności 2030 roku pod tytułem „Przywracanie przyrody do naszego życia”, a także podstawowy cel rolnictwa regeneracyjnego. Celem doświadczenia było zbadanie wpływu, opracowanego i przetestowanego w doświadczeniu wazonowym biopreparatu, na aktywność i różnorodność funkcjonalną zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających glebę i fylosferę ekologicznych malin uprawnych. W doświadczeniu zastosowano opracowany biopreparat składający się z inokulum 4 pożytecznych bakterii, należących do rodzajów *Arthrobacter*, *Pseudomonas* i *Rhodococcus*, wysuszonego na ziemi okrzemkowej z dodatkiem suplementów poprawiających wzrost bakterii, zarodników 9 szczepów grzybów *Trichoderma* oraz suplementów. Mikroorganizmy wchodzące w skład biopreparatu zostały wyizolowane z naturalnych siedlisk malin dzikorosnących. Biopreparat naniesiono zarówno pod korzenie w formie sypkiej, nierozpuszczalnej oraz na roślinę w postaci rozpuszczalnej. Doświadczenie prowadzono na 280 roślinach należących do 7 klonów malin. Preparat aplikowano 3-krotnie w maju, sierpniu i październiku, a 2 tygodnie po aplikacji pobrano do analiz próbki gleby, liści i owoców (owoce pobierano tylko w sierpniu i październiku). W próbkach gleby oznaczono aktywność enzymów z grupy dehydrogenaz oraz przy pomocy mikromacierzy fenotypowych z wykorzystaniem płytek EcoPlates i systemu BiologTM, przeprowadzono analizę zdolności mikroorganizmów zasiedlających glebę, liście oraz owoce malin do utylizacji 31 różnych źródeł węgla. Przeprowadzone doświadczenie pozwoliło na zaobserwowanie zmian sezonowych w aktywności dehydrogenaz w glebie, a także na określenie wpływu aplikowanego biopreparatu na mikroorganizmy glebowe. Aplikacja biopreparatu pierwszy raz – w maju, w większości obiektów powodowała spadek aktywności dehydrogenaz. Najsilniejszy wzrost aktywności dehydrogenaz widoczny był po 3 krotnej aplikacji biopreparatu – w październiku. Analiza funkcjonalna zbiorowisk zasiedlających glebę i fylosferę wykazała dużo większe zróżnicowanie aktywności wśród mikroorganizmów występujących na powierzchni liści, w porównaniu do tych zasiedlających glebę.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

NOWE ROZWIĄZANIA BIOTECHNOLOGICZNE W DIAGNOSTYCE I ZWALCZANIU *PEZICULA* spp. PATOGENÓW GRZYBOWYCH JABŁEK. ZAŁOŻENIA PROJEKTU LIDER APPAT(f)REE

Karolina Oszust¹, Klaudia Szpilska¹, Jacek Panek¹, Agata Gryta¹, Michał Pylak¹, Magdalena Frąc¹

¹ Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina, Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Polska

E-mail: k.oszust@ipan.lublin.pl

Sektor produkcji jabłek to ważna gałąź gospodarki Polski. Można śmiało powiedzieć, że jabłka to owoce, które stały się polską specjalnością. Zapewnienie jak najlepszej jakości jabłek jest najważniejszym wymogiem stawianym producentom tych owoców. Sadownicy muszą jednocześnie spełniać szereg regulacji w zakresie bezpieczeństwa żywności i środowiska. W produkcji jabłek obserwuje się straty finansowe związane z występowaniem chorób przechowalniczych o charakterze latentnym, powodowanych przez fitopatogeniczne grzyby z rodzaju *Pezicula* (synonim *Neofabraea*, *Gleosporium*). Inwestorzy sektora oczekują więc nowych rozwiązań wspierających racjonalne gospodarowanie jabłkami, zwracając uwagę na niedobór na rynku ekologicznych metod zwalczania *Pezicula* spp. i metod wczesnego wykrywania tych patogenów, kiedy nie ma jeszcze objawów choroby w jabłku. Projektowane badania wychodzą tym oczekiwaniom naprzeciw.

Celem projektu APPAT(f)REE jest opracowanie innowacyjnych celowanych rozwiązań biotechnologicznych do przeciwdziałania skutkom rozwoju patogenów grzybowych jabłek *Pezicula* spp. Będą to innowacje produktowe: (i) biopreparat mikrobiologiczny zapobiegający rozwojowi *Pezicula* spp. oraz (ii) metoda wczesnej detekcji *Pezicula* spp. w jabłkach do oceny zagrożenia wystąpienia gorzkiej zgnilizny. Cel zostanie osiągnięty poprzez zweryfikowanie funkcjonalności poszczególnych komponentów obydwu rozwiązań w warunkach laboratoryjnych, zintegrowanie komponentów w modele laboratoryjne, uzyskanie ogólnego odzwierciedlenia efektywności i specyficzności rozwiązań w testach skuteczności.

Kluczową nowością projektu jest koncepcja suplementacji konsorcjum mikroorganizmów antagonistycznych biopreparatu wyselekcjonowanymi prebiotykami oraz wykorzystanie metody analizy DNA bazującej na ilościowej detekcji układu markerów genetycznych, w tym wirulencji do wczesnej detekcji *Pezicula* spp., pozwalające na prognozowanie zagrożenia wystąpienia gorzkiej zgnilizny jabłek.

Źródło finansowania: Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu LIDER XII, numer umowy LIDER/7/0054/L-12/20/NCBR/2021

KWASOWOŚĆ I SŁODYCZ: WŁAŚCIWOŚCI ŻYWNOSTI I ICH ROLA W KONTROLOWANIU CZYNNIKA POWODUJĄCEGO PSUCIE, GRZYBA *ASPERGILLUS* SP. (POSTAĆ TELEOMORFICZNA: *NEOSARTORYA* SP.)

Wiktoria Maj¹

¹ Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina, Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, Polska

E-mail: w.maj@ipan.lublin.pl

Choć niektóre grzyby strzępkowe są wykorzystywane w procesach dojrzewania serów oraz w produkcji enzymów stosowanych w przemyśle spożywczym, większość gatunków jest uważana za szkodliwe dla produkcji żywności, głównie poprzez zanieczyszczanie i powodowanie psucia surowców rolniczych oraz produktów spożywczych. Przeprowadzone badania obejmowały, istotne dla jakości produktów przetwarzanych termicznie, grzyby z rodzaju *Neosartorya* – stadium doskonałego rodzaju *Aspergillus*, które cechują się niezwykłą termoopornością oraz wysoką zdolnością sporulacji. Sprawia to, że grzyby te są wyjątkowo żywotne i zdolne do przetrwania obróbki cieplnej jakiej poddawana jest żywność w celach konserwacji. Naturalnym środowiskiem bytowania grzybów z rodzaju *Neosartorya* jest gleba, stąd łatwo o kontaminację owoców takich jak truskawki, które należą do jednych z głównych surowców eksportowych Polski. Zanieczyszczenie grzybami oraz następujące później psucie i skażenie mykotoksynami może negatywnie wpłynąć na dostępność produktu, gospodarkę kraju, a w szczególności zdrowie ludzi. Warto zatem poszukiwać nowych, bezpiecznych dla żywności oraz ekologicznych rozwiązań, a także sprawdzić skuteczność tradycyjnie stosowanych zabiegów stosowanych w konserwacji żywności wobec grzybów z rodzaju *Neosartorya*. Sugerując się dostępnymi aczkolwiek fragmentarycznymi danymi literaturowymi o podatności *Neosartorya* spp. na odpowiednie połączenia wartości pH oraz zawartości cukru, oraz wspierając się wiedzą praktyczną wykorzystywaną w produkcji przetworów owocowych, wykonano spektrum analiz kombinacji tychże wartości. Badania potwierdziły skuteczność wybranych kombinacji zawartości cukru oraz pH w hamowaniu wzrostu badanych izolatów należących do rodzaju *Neosartorya*. Uzyskane wyniki mogą zatem sugerować dalszą ścieżkę postępowania z grzybowymi zanieczyszczeniami żywności, które są odporne na termiczne metody konserwacji żywności. Wykryte zmiany wrażliwości grzybów z rodzaju *Neosartorya* na zastosowane kombinacje doświadczalne pH i cukru pomiędzy testowanymi izolatami, będą pomocne w dalszych badaniach zmierzających do określenia roli właściwości morfologicznych, metabolicznych i genetycznych grzybów w kształtowaniu ich odporności na czynniki konserwujące.

Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki, Preludium Bis-2, numer umowy 2020/39/O/NZ9/03421

ANALIZA SIECI POWIĄZAŃ BAKTERII W ZDROWYCH I CHORYCH PRÓBKACH EKOLOGICZNEJ TRUSKAWKI

Dominika Siegieda¹, Jacek Panek¹, Magdalena Frąc¹

¹ Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Polska

E-mail: d.siegieda@ipan.lublin.pl

Zrównoważony sposób produkcji roślinnej zyskuje na popularności, a Polska jest największym producentem ekologicznej truskawki w Unii Europejskiej. Taki sposób produkcji roślinnej nakłada liczne ograniczenia na rolników, takie jak ograniczenie lub rezygnacja ze stosowania chemicznych środków ochrony roślin na rzecz naturalnych rozwiązań, preparatów biologicznych i środków dopuszczonych do stosowania w rolnictwie ekologicznym. Rośliny wraz z bakteriami je zasiedlającymi tworzą skomplikowane sieci powiązań, wpływające na strukturę mikrobiomu oraz zdrowie roślin. Wykorzystanie analizy sieci powiązań mikroorganizmów pozwala na zrozumienie złożonego współdziałania bakterii w ich naturalnym środowisku oraz oddziaływań pomiędzy roślinami i ich mikrobiomem.

Celem pracy było porównanie sieci mikroorganizmów bakteryjnych w próbkach gleby, ryzosfery, korzeni oraz części nadziemnych pobranych ze zdrowych oraz wykazujących symptomy choroby plantacji ekologicznej truskawki 3 różnych odmian (n=153). Badania obejmowały etap izolacji całkowitego DNA z próbek, amplifikację bakteryjnego markera 16S (region V3-V4) oraz sekwencjonowanie za pomocą platformy Illumina MiSeq. Następnie dane zostały przetworzone w środowisku QIIME2 oraz poddane analizie sieci powiązań sekwencji mikroorganizmów bakteryjnych, które występowały w co najmniej 150 odczytach, przy pomocy biblioteki 'NetCoMi' w języku R (4.1.2) w RStudio (2021.09.2).

Analiza wykazała, że we wszystkich typach próbek istnieją różnice w sieci powiązań mikroorganizmów bakteryjnych pomiędzy próbkami pochodzącymi z plantacji zdrowych oraz porażonych. We wszystkich rodzajach próbek widoczne są silne oddziaływania negatywne pomiędzy klastrami próbek zdrowych, które są mniej intensywne w próbkach plantacji porażonych, a nawet zanikają w częściach nadziemnych roślin. Wyniki tej analizy pozwoliły na określenie różnic w mikrobiomie chorych oraz zdrowych roślin ekologicznej truskawki, co może przyczynić się do zrozumienia zależności zachodzących między mikroorganizmami w warunkach eubiozy i dysbiozy spowodowanej stanem chorobowym roślin, a także może posłużyć do opracowania skutecznych, celowanych biopreparatów do zastosowania w uprawach ekologicznych, zrównoważonych i konwencjonalnych, biorąc pod uwagę zdrowie gleb i roślin istotne dla rolnictwa regeneracyjnego.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

WPŁYW NAWOZÓW MINERALNYCH WZBOGACONYCH MIKROBIOLOGICZNIE NA OBFITOŚĆ GENÓW BIORĄCYCH UDZIAŁ W OBIEGU AZOTU

Giorgia Pertile¹, Lidia Sas-Paszt², MAGDALENA FRĄC¹

¹ Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Polska

² Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice, Polska

E-mail: g.pertile@ipan.lublin.pl

Nawozy mineralne wzbogacone mikrobiologicznie stanowią alternatywę dla tradycyjnych nawozów syntetycznych, pozwalając jednocześnie na ograniczenie stosowanych dawek nawozów syntetycznych, co powoduje, że tego typu bio-nawozy są bardziej przyjazne dla środowiska naturalnego i agroekosystemów. Ponieważ rolnictwo w znacznym stopniu zmierza w kierunku modelu zrównoważonego i ekologicznego, odnosząc się w szczególności do zdrowia i bioróżnorodności gleby, konieczne są badania alternatywnych sposobów nawożenia oraz ich oddziaływania na środowisko glebowe, a zwłaszcza na gleby zdegradowane wymagające odbudowy bioróżnorodności i funkcji ekosystemowych. Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu nawożenia mocznikiem wzbogaconym pożytecznymi szczepami grzybów na obfitość różnych genów funkcjonalnych biorących udział w obiegu azotu. W ostatnich latach obserwowany jest intensywny rozwój metod typu multipleks, w tym w odniesieniu do ilościowej łańcuchowej reakcji polimerazy (multiplex qPCR). Metodologia ta umożliwia ilościowe oznaczanie obecności kilku genów w tej samej reakcji. Jednakże, jednoczesna analiza funkcjonalnych genów zaangażowanych w obieg azotu w próbkach środowiskowych jest dużym wyzwaniem. Dlatego w ramach przeprowadzonych badań przeprowadzona została optymalizacja multipleks qPCR dla wybranych genów funkcjonalnych zaangażowanych w obieg azotu, co pozwoliło na określenie różnic pomiędzy zastosowanymi bionawozami oraz ich dawkami. Przeprowadzone badania umożliwiły określenie różnorodności społeczności mikroorganizmów glebowych, a także genów funkcjonalnych, które odgrywają ważną rolę w obiegu azotu, mając wpływ na środowisko, w tym obserwowane zmiany klimatyczne.

Źródło finansowania: Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017

PRODUKCJA PHA PRZEZ MIESZANE KULTURY METANOTROFICZNE

Aleksandra Gęsicka¹, Natalia Gutowska¹, Piotr Oleśkiewicz-Popiel¹, Mateusz Łężyk¹

¹ Zakład Zaopatrzenia w Wodę i Biogospodarki, Politechnika Poznańska, Polska

E-mail: aleksandra.gesicka@doctorate.put.poznan.pl

Mikroorganizmy zdolne do utylizacji gazów cieplarnianych jako źródła węgla w procesach biotechnologicznych, stanowią atrakcyjną platformę do produkcji wartościowych związków, jednocześnie przyczyniając się do zmniejszenia emisji szkodliwych gazów. Bakterie metanotroficzne posiadają unikalną zdolność do bezpośredniej konwersji metanu do szerokiej gamy produktów t.j. bioplastik, biopaliwa, dodatki paszowe, ektoina i wiele innych. Bakterie te są wszechobecne w środowisku co umożliwia ich łatwe pozyskanie i wyselekcjonowanie hodowli, zarówno mieszanych kultur metanotroficznych jak i izolatów czystych szczepów, które charakteryzowałyby się wysokim potencjałem technologicznym. Wykorzystanie mieszanych kultur metanotroficznych do produkcji polihydroksyalkanianów (PHA) z metanu stwarza możliwość na rozwój bardziej opłacalnych metod produkcji polimerów w systemach biologicznych. Kluczowe dla stworzenia efektywnego procesu jest uzyskanie hodowli metanotrofów o wysokim potencjale do akumulacji PHA w komórkach. W przeprowadzonych badaniach pięć prób środowiskowych użyto jako inokulum w procesie wzbogacania kultur w bakterie metanotroficzne z użyciem biogazu jako jedyne źródła węgla. Głównym celem było wyselekcjonowanie mieszanych kultur metanotroficznych zdolnych do efektywnej produkcji PHB (polihydroksymaślanu). Dodatkowo sprawdzano wpływ źródła azotu na kształtowanie się kultur poprzez hodowlę na azotanie (NMS) lub amonie (AMS). Po przeprowadzeniu serii transferów, wykształcone kultury użyto do produkcji PHB. Na podstawie przeprowadzonej analizy składu mikrobiologicznego i ilości zakumulowanego PHB wzbogaconych kultur, wybrano te o największym potencjale do produkcji biopolimerów. Wszystkie z mieszanych kultur, które rosły w NMS medium wykazywały dominację bakterii metanotroficznych w swym składzie. Kultury te charakteryzowały się także dobrym wzrostem biomasy i osiągały najwyższe stężenie PHB, na poziomie do $0,413 \pm 0,015$ g/L przy stopniu akumulacji PHB w suchej masie do $27,15 \pm 1,97$ %. W wyniku przeprowadzanych badań wyselekcjonowano trzy kultury o wysokim potencjale do wykorzystaniu w produkcji PHA; osad czynny, torfowisko i pokrywa wieloletniego składowiska odpadów wzbogacane na NMS'ie.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu nr 2019/35/D/ST8/03530, program SONATA15.

ANALIZA METAGENOMOWA MIKROBIOMU BOROWIN STOSOWANYCH W LECZNICTWIE UZDROWISKOWYM

Łukasz Mąka¹, Marta Bartosik¹, Jolanta Solecka¹

¹ Zakład Bezpieczeństwa Zdrowotnego Środowiska, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH -
Państwowy Instytut Badawczy, Polska

E-mail: lmak@op.pl

Leczenie z wykorzystaniem naturalnych surowców ma wielowiekową tradycję. Jedną z podstawowych zasad lecznictwa uzdrowiskowego jest wykonywanie zabiegów z wykorzystaniem naturalnych surowców leczniczych, w tym borowin. Pomimo stosowania tego surowca w Polsce, dotychczas nie był on przedmiotem ukierunkowanych badań mikrobiologicznych, które pozwoliłyby szerzej ocenić jego potencjał oraz scharakteryzować mikrobiom.

Celem pracy była charakterystyka populacji mikroflory borowin, które wykorzystywane są do zabiegów leczniczych oraz ocena ich potencjału w zakresie wykorzystania jako źródła drobnoustrojów mogących mieć znaczenie ekonomiczne. Umożliwiło to również pełniejsze zrozumienie środowiska, z którego pochodzą złoża.

Próbki borowin pobierano z torfowiska „Puścizna Wielka” zlokalizowanego w gminie Czarny Dunajec, powiat nowotarski, województwo małopolskie. Panujące tu od tysiącleci specyficzne warunki siedliskowe i klimatyczne, a także położenie w sąsiedztwie wysokich pasm górskich, wpłynęły na wykształcenie się tu jedynej w swoim rodzaju, nie spotykanej nigdzie indziej roślinności.

Z pobranych próbek izolowano DNA z wykorzystaniem zestawów komercyjnych. W kolejnym etapie wykonano PCR z celu uzyskania amplikonów obejmujących region V3-V4 16S r RNA. Otrzymane produkty oczyszczano, a następnie sekwencjonowano i przeprowadzano analizy bioinformatyczne.

W pięciu badanych próbkach zidentyfikowano łącznie 60 różnych typów bakterii oraz 5 typów należących do domeny *Archea*. Największa liczba sekwencji (41,0% - 51,5%) była klasyfikowana jako *Acidobacteriota*, a następnie *Proteobacteria* (22,2% - 33,4%). Na poziomie klasy najczęściej identyfikowano sekwencje *Acidobacteriae* (46,4%-59,8%), a następnie *Alphaproteobacteria* (13,6%-21,0%) oraz *Gammaproteobacteria* (5,8% - 17,6%). Z kolei od 27,8% do 42,2% zidentyfikowanych sekwencji należało do rzędu *Acidobacteriales*, a 8,9% - 20,3% do rzędu *Rhizobiales*.

Uzyskane wyniki wykazały, że badane próbki borowin charakteryzuje duża bioróżnorodność bakterii. Złoża borowin, z których pobrano próbki mogą być źródłem drobnoustrojów o potencjale ekonomicznym.

W związku z powyższym celowe jest prowadzenie dalszych badań z wykorzystaniem metod hodowlanych oraz analiz biochemicznych, które zweryfikują odkryty potencjał drobnoustrojów bytujących w borowinach leczniczych.

Źródło finansowania: Projekt dla młodych naukowców NIZP PZH-PIB 1/BKMŁ/21

PROFIL AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ METABOLITÓW WTÓRNYCH WYTWARZANYCH PRZEZ NOWY GATUNEK PROMIENIOWCA Z RODZAJU *STREPTOMYCES*

Aleksandra Rajnisz-Mateusiak¹, Jolanta Solecka¹

¹ Zakład Bezpieczeństwa Zdrowotnego Środowiska, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH-
Państwowy Instytut Badawczy, Polska

E-mail: jsolecka@pzh.gov.pl

Rosnąca oporność bakterii na antybiotyki powoduje znaczne ograniczenie efektywności aktualnie stosowanych leków i przyczynia się do medycznego i społecznego zapotrzebowania na nowe terapie przeciwdrobnoustrojowe. Dlatego niezbędne jest identyfikowanie nowych czynników przeciwbakteryjnych, wykazujących nowe mechanizmy działania. Celem przedstawionej pracy była charakterystyka przeciwbakteryjnych właściwości metabolitów wtórnych wytwarzanych przez nowy gatunek promieniowca, *Streptomyces* sp. PL1, który został wyizolowany z gleby pobranej w Indiach.

Przy zastosowaniu zmodyfikowanych wytycznych amerykańskich (CLSI) ustalono wartości MIC supernatantu hodowli *Streptomyces* sp. PL1 wobec szczepów bakterii wzorcowych oraz szczepów klinicznych *Escherichia coli*. Wykonano analizę pełnogenomowej sekwencji *Streptomyces* sp. PL1 z wykorzystaniem platformy antiSMASH. Przeprowadzono analizę HPLC-MS w kierunku obecności w supernatancie aminoglikozydów pochodzenia mikrobiologicznego: streptomycyny, kanamycyny, spektynomycyny, neomycyny oraz tetracykliny, oksytetracykliny i chlorotetracykliny.

Streptomyces sp. PL1 wytwarza metabolity wtórne, które hamują wzrost następujących bakterii: *Escherichia coli* ATCC® BAA-198 (MIC=2,5 µl supernatantu/ml próbki), *Escherichia coli* ATCC® 25922™ (MIC=2,5 µl/ml), *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 13882 (MIC=1,25 µl/ml), *Salmonella enterica* ATCC® 10708™ (MIC=1,25 µl/ml), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853 (MIC=20 µl/ml), *Proteus mirabilis* ATCC® 12453 (MIC=50 µl/ml), *Proteus vulgaris* ATCC® 6896™ (MIC=200 µl/ml) oraz *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC® 13637™ (MIC=200 µl/ml). Wartości MIC supernatantu wobec szczepów klinicznych *Escherichia coli* wynosiły 2,5 - 5 µl/ml. Analiza pełnogenomowej sekwencji *Streptomyces* sp. PL1 wykazała obecność 44 klastrow genów potencjalnie odpowiedzialnych za biosyntezę metabolitów wtórnych. Żaden z wykrytych klastrow nie jest odpowiedzialny za biosyntezę znanej substancji przeciwbakteryjnej. Analiza HPLC-MS nie wykazała obecności aminoglikozydów pochodzenia mikrobiologicznego w supernatancie hodowli *Streptomyces* sp. PL1. Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że metabolity wtórne o aktywności przeciwbakteryjnej wytwarzane przez badany szczep mają nieopisaną do tej pory strukturę chemiczną.

Źródło finansowania: projekt „Potencjalny antybiotyk oraz metoda pozyskiwania nowych związków przeciwbakteryjnych” UDA-POIG.01.03.01-14-136/09.

CHARAKTERYSTYKA TAKSONOMICZNA NOWEGO GATUNKU PROMIENIOWCA Z RODZAJU *STREPTOMYCES*

Aleksandra Rajnisz-Mateusiak¹, Jolanta Solecka¹

¹ Zakład Bezpieczeństwa Zdrowotnego Środowiska, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH- Państwowy Instytut Badawczy, Polska

E-mail: arajnisz@pzh.gov.pl

Wzrost liczby antybiotykoopornych szczepów bakterii prowadzi do zwiększonych kosztów terapii oraz śmiertelności z powodu zakażeń. Postęp w badaniach nad nowymi antybiotykami jest zależny m. in. od efektów poszukiwań bioaktywnych substancji wytwarzanych przez nowe gatunki mikroorganizmów.

Celem przedstawionej pracy było odkrycie i charakterystyka nowego gatunku promieniowca wytwarzającego metabolity wtórne, które hamują wzrost bakterii Gram ujemnych. Promieniowce izolowano z dwóch próbek gleby, pobranych w Indiach. Przeprowadzono skrining wyhodowanych izolatów pod kątem wytwarzania metabolitów wtórnych o aktywności przeciwbakteryjnej wobec *Escherichia coli* ATCC® BAA-198. Wykonano wielokierunkową charakterystykę taksonomiczną izolatu, którego zatężony supernatant wykazywał największą strefę zahamowania wzrostu *Escherichia coli*. Przeprowadzono proces rybotypowania. Do uzyskania sekwencji pełnogenomowej wybranego izolatu wykorzystano platformę Illumina. Hybrydyzacja cyfrowa przy użyciu narzędzia internetowego Genome to Genome Distance Calculator pozwoliła na ustalenie wartości podobieństwa pełnogenomowych sekwencji pomiędzy wybranym izolatem oraz gatunkiem promieniowca najbliższym z nim spokrewnionym. Określono cechy fenotypowe wybranego izolatu oraz gatunku promieniowca najbliższego z nim spokrewnionego. Przeprowadzono badania markerów chemiotaksonomicznych tj. profilu kwasów tłuszczowych, lipidów polarnych, menachinononów oddechowych, cukrów oraz obecności kwasu LL-diaminopimelinowego.

Z gleby pochodzącej z Indii wyizolowano 8 szczepów promieniowców. Do dalszych badań wybrano izolat PL1. *Streptomyces orinoci* DSM 40571 jest gatunkiem najbliższym spokrewnionym ze *Streptomyces* sp. PL1. Wielkość genomu *Streptomyces* sp. PL1 wynosi 7.133.684 pz, zaś zawartość par G+C jest równa 70,7%. Wartość podobieństwa sekwencji pełnogenomowych *Streptomyces* sp. PL1 oraz *Streptomyces orinoci* DSM 40571 wynosi 26,1%. Przy zastosowaniu porównania cech fenotypowych stwierdzono odrębność szczepu *Streptomyces* sp. PL1 od *Streptomyces orinoci* DSM 40571. Wyniki przeprowadzonych badań markerów chemiotaksonomicznych potwierdziły przynależność rodzajową badanego promieniowca. Uzyskane wyniki charakterystyki taksonomicznej pozwalają wnioskować, że *Streptomyces* sp. PL1 jest nowym gatunkiem promieniowca.

Źródło finansowania: projekt „Potencjalny antybiotyk oraz metoda pozyskiwania nowych związków przeciwbakteryjnych” UDA-POIG.01.03.01-14-136/09.

E-plakaty:

Nr streszczenia: 0208

ZDOLNOŚĆ WYBRANYCH SZCZEPÓW WYIZOLOWANYCH Z SKŁADOWISKA ODPADÓW NIEBEZPIECZNYCH W ZGIERZU DO WZROSTU W OBECNOŚCI ODCIEKÓW I ICH MOŻLIWEJ DETOKSYKACJI

Aleksander Nowak¹, Aleksandra Walaszczyk², Długoński Andrzej³, Katarzyna Paraszkievicz⁴

¹ Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne „Bio-Mik”, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Polska

² Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Polska

³ Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Nauk o Środowisku, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, Polska

⁴ Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Polska

E-mail: aleksander.nowak@edu.uni.lodz.pl

Drobnoustroje wyizolowane z środowisk zanieczyszczonych, takich jak miejskie składowiska odpadów często charakteryzują się niezwykleymi uzdolnieniami metabolicznymi. Mogą rosnąć w obecności związków toksycznych, a nawet neutralizować je na drodze ich częściowego lub całkowitego rozkładu. W badaniach stosowano trzy szczepy bakteryjne wyizolowane z gleby pobranej na Składowisku Odpadów Niebezpiecznych w Zgierzu: dwa szczepy *Bacillus* (Zg 1.4, Zg 8.6) oraz szczep *Pseudomonas* (Zg 9.3). Celem badania było określenie zdolności szczepów bakteryjnych do wzrostu w obecności odcieków pobranych z powyższego składowiska i do ich detoksykacji. Hodowle płynne bakterii prowadzono w podłożu Luria-Bertani (LB) bez NaCl przez 72 godziny, w warunkach wytrząsania (120 obr./min), w temp. 28°C. Hodowle kontrolne prowadzono w podłożu, w których dodatek odcieków zastąpiono wodą destylowaną. Układy badane zawierały dodatek odcieków (pobranych ze składowiska) w objętości końcowej 40% v/v. Wzrost bakterii oceniano na podstawie gęstości optycznej (ang. *Optical Density*, OD; $\lambda = 630 \text{ nm}$) i uzyskanej suchej biomasy. Aktywność powierzchniową płynów pohodowlanych wyznaczano stosując test zapadającej się kropli (ang. *Drop Collapsing Test*, DCT). Detoksykację odcieków badano z wykorzystaniem siewek ogórka siewnego (*Cucumis sativus* L.), inkubowanych w fitotronie, w obecności płynów pohodowlanych, przez 120 godz., w temp. 25°C. Stwierdzono, że bakterie *Bacillus* Zg 1.4 oraz Zg 8.6 charakteryzują się bardziej intensywnym wzrostem w podłożu z dodatkiem odcieków w porównaniu do układów kontrolnych. W hodowlach Zg 8.6 i Zg 9.3 zawierających odcieki stwierdzono

spadek aktywności powierzchniowej biosurfaktantów. Dla wszystkich prób siewek ogórka inkubowanych w obecności płynów pochodzących z szczepów *Bacillus* uzyskano bardzo zbliżone wartości suchej masy korzeni oraz łodyg, niezależnie od obecności lub braku odcieków. Uzyskane wyniki wskazały że: 1) użyte w badaniu szczepy *Bacillus* zdolne są do wykorzystania związków zawartych w odciekach jako źródła węgla i energii; 2) obecność odcieków nie stymuluje produkcji/aktywności biosurfaktantów badanych drobnoustrojów; 3) intensywny wzrost bakterii w podłożu z odciekami nie wpływa na obniżenie toksyczności użytych zanieczyszczeń wobec siewek ogórka.

Źródło finansowania: Badania były finansowane z Grantu Studenckiego przyznanego dla Aleksandra Nowaka przez Uniwersytet Łódzki.

ZMIANY W PROFILU LIPIDOWYM SZCZEPU *PSEUDOMONAS* SP. L1 WYWOŁANE RÓŻNYMI WARUNKAMI HODOWLI

Iwona Komaniecka¹, Anita Swatek², Małgorzata Pawlik³, Katarzyna Kasperkiewicz³, Zofia Piotrowska-Seget³, Adam Choma²

¹ Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Nauk Biologicznych, Polska

² Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Nauk Biologicznych, Polska

³ Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Śląski w Katowicach, Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska, Polska

E-mail: iwona.komaniecka@mail.umcs.pl

Bakterie wyizolowane z liści traw (życica trwała, *Lolium perenne* L.) rosnących na terenach industrialnych Zabrza (Śląsk) zostały zaklasyfikowane, na podstawie sekwencjonowania fragmentu 16S rDNA, do rodzaju *Pseudomonas* i oznaczone symbolem L1 [1]. Według danych literaturowych w skład lipidów błonowych tych mikroorganizmów w ogromnej większości szczepów wchodzi trzy glicerofosfolipidy identyczne z tymi spotykanymi u enterobakterii (fosfatydyloglicerol - PG, fosfatydyloetanolamina - PE i kardiolipina - CL), przy czym zdecydowanie dominuje PE (60-80%) [2,3]. Przeprowadzone badania nad frakcjami lipidowymi wyizolowanymi z bakterii *Pseudomonas* sp. L1, hodowanych w różnych podłożach płynnych (pełnym - LB, minimalnym - M9 z glukozą jako jedynym źródłem węgla oraz M9 suplementowanym fenolem jako ksenobiotykiem i jednocześnie jedynym źródłem węgla) wskazują, że odpowiedź tych bakterii na zmiany środowiska wzrostu powoduje znaczące przemodelowanie składu jakościowego i ilościowego lipidów błonowych. Bakterie *Pseudomonas* sp. L1 rosnące na podłożu pełnym (LB) syntetyzowały typowy dla rodzaju *Pseudomonas* zestaw fosfolipidów (PE - 68%, CL - 22%, PG - 10%). Zmiana warunków hodowli (podłoże minimalne) pociąga za sobą nie tylko zmiany ilościowe w spektrum fosfolipidów ale także indukcję syntezy fosfatydylocholiny (PC) (PE - 63%, CL - 28%, PG - 7%, PC - 2%). W tym przypadku, biosynteza PC w podłożu niezawierającym egzogennej choliny skłania z kolei do poszukiwania genów kodujących enzymy biorące udział w szlaku syntezy PC wśród homologów genu *pmtA* (metylaza fosfatydyloetanolaminy). Stwierdzono ponadto, iż obecność w podłożu fenolu zdecydowanie spowalnia wzrost bakterii i jednocześnie sprawia, że szczep *Pseudomonas* sp. L1 syntetyzuje porównywalne ilości czterech rodzajów fosfolipidów (PE - 29%, PG - 23%, PC - 18%, CL - 16%) oraz dodatkowo pojawia się lipid bezfosforowy, prawdopodobnie z klasy lipidów aminokwasowych (X - 14%). Jego struktura nie została jeszcze potwierdzona.

Bibliografia:

[1] Kulka M., et al. Chemosphere (2014) 117: 40-46.

[2] Kondakova T. et al.. Chemistry and Physics of Lipids (2015) 190: 27-42.

[3] Boeris PS., et al. J. Appl. Microbiol. (2007) 103: 1048-1054.

Źródło finansowania: Badania częściowo finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu OPUS (nr projektu: 2020/37/B/NZ8/00855)

PORÓWNANIE BEZPIECZEŃSTWA MIKROBIOLOGICZNEGO W KARMACH SUCHYCH DLA KOTÓW PO OTWARCIU ORAZ PO 45 DNIACH PRZECHOWYWANIA

Olga Sierawska¹, Joanna Ziętara-Wysocka², Cansel Taskin³, Paulina Małkowska¹, Agata Poniewierska-Baran⁴, Dominika Bębnowska⁴, Rafał Hryniewicz⁴, Paulina Niedźwiedzka-Rystwej¹

¹ Szkoła Doktorska, Uniwersytet Szczeciński, Polska

² Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Szczecinie, Polska

³ Wydział Biologii, Uniwersytet w Ankarze, Turcja

⁴ Instytut Biologii, Uniwersytet Szczeciński, Polska

E-mail: olga.sierawska@phd.usz.edu.pl

Wśród metod żywienia psów i kotów za najpopularniejszą uznaje się karmienie suchą karmą. Wraz z popularnością wiąże się duża produkcja karm, w której poszczególnych etapach istnieje wiele możliwości namnażania się populacji drobnoustrojów. Mimo, że żywność jest przetwarzana w wysokich temperaturach, które niszczą mikroorganizmy, a nowoczesne techniki produkcji mają na celu zapobieganie wszelkim zanieczyszczeniom mikrobiologicznym produktu końcowego, nadal mogą się w niej utrzymywać formy przetrwalnikowe, a samo zanieczyszczenie może nastąpić po produkcji, na przykład podczas przechowywania żywności w sklepie detalicznym lub w domu. Opiekunowie zwierząt mogą nie być świadomi drobnoustrojów potencjalnie występujących w żywności dla zwierząt. Dotychczas w Polsce przeprowadzone zostały badania nad bezpieczeństwem mikrobiologicznym suchej psiej karmy, a kocia pozostawała niezbadana. W związku z tym przeprowadziliśmy pierwsze badania suchej karmy kocie bezpośrednio po otwarciu opakowania oraz kupieniu porcji na wagę w sklepie detalicznym.

W tych badaniach porównano bezpieczeństwo mikrobiologiczne w sześciu karmach suchych kupionych w oryginalnych opakowaniach producenta oraz tych samych karmach zakupionych w punkcie sprzedaży na wagę z opakowań otwartych w dniu otwarcia oraz 45 dni po otwarciu. Okres 45 dni po otwarciu karm jest maksymalnym zalecanym terminem spożycia karmy zgodne z zaleceniami dotyczącymi przechowywania tych produktów. W badaniach zastosowano normy do badań produktów przeznaczonych do spożycia przez ludzi i pasz dla zwierząt dotyczące wykrycia *Salmonella* spp. (PN-EN ISO 6579-1:2017-04), oznaczania liczby drobnoustrojów (PN-EN ISO 4833-1:2013-12), oznaczania liczby gronkowców koagulazo-dodatnich (PN-EN ISO 6888-1:2001), wykrywania i oznaczania liczby Enterobacteriaceae (PN-EN ISO 21528-2:2017-08), oznaczania liczby drożdży i pleśni (PN-ISO 21527-2:2009) oraz oznaczania liczby bakterii z grupy coli (PN-ISO 4832:2007).

Uzyskane wyniki i ich analiza wskazuje na zachowanie bezpieczeństwa mikrobiologicznego suchej karmy dla kotów. W próbach uzyskano dopuszczalny poziom zanieczyszczenia bakteriami wskaźnikowymi oraz nie wykryto żadnych bakterii chorobotwórczych dla człowieka. Wyniki badań wskazują, że zachowanie zasady dobrej praktyki produkcyjnej i reżimu higienicznego podczas produkcji, podczas przechowywania produktu w punkcie sprzedaży oraz po zakupie skutkują wysokim poziomem bezpieczeństwa mikrobiologicznego w badanych karmach suchych.

CUKROWNIA JAKO ATRAKCYJNA LOKALIZACJA INNOWACYJNYCH TECHNOLOGII ENERGII ODNAWIALNEJ

Anna Sikora¹, Anna Detman¹, Ewa Wiktorowska-Sowa², Marcin Nosek², Marcin Szewczyk², Szymon Nowak², Jan Piotrowski³

¹ Pracownia Białej Biotechnologii, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Polska

² Oddział Cukrownia Dobrzelin, Krajowa Grupa Spożywcza S.A., Polska

³ Biuro w Warszawie, Krajowa Grupa Spożywcza S.A., Polska

E-mail: annaw@ibb.waw.pl

Produkty uboczne i odpadowe przemysłu cukrowniczego ze względu na wysoką zawartość węglowodanów stanowią atrakcyjny substrat dla szerokiej gamy mikroorganizmów fermentacyjnych. Podczas przerobu buraków cukrowych na cukier produktami ubocznymi są wysłodki buraczane, liście i melasa, a odpadowymi wody spławiakowe po hydraulicznym transporcie buraków, korzonki i wierzchołki buraków.

Polska jest trzecim producentem cukru w Europie. Największym wytwórcą cukru białego w Polsce, z ponad 40-procentowym udziałem w rynku, jest Krajowa Grupa Spożywcza S.A. W jednym z jej oddziałów, Cukrowni Dobrzelin, we współpracy z jednostką naukową IBB PAN, prowadzona jest działalność badawczo-rozwojowa i wdrożeniowa, wykorzystująca aktywność metaboliczną mikroorganizmów beztlenowych produkujących biowodór i biogaz (biometan).

Prace wdrożeniowe objęły modernizację oczyszczalni ścieków w Cukrowni Dobrzelin, do której trafiają głównie wody po hydraulicznym transporcie buraków. Wynikiem modernizacji jest kontrola emisji biogazu powstającego w beztlenowej komorze oczyszczalni ścieków i jego wykorzystanie do produkcji energii elektrycznej i ciepłej w agregacie kogeneracyjnym. Powstały nowe linie oczyszczania i magazynowania biogazu. Otrzymany biogaz zawiera ponad 70% biometanu. Wyprodukowana energia elektryczna przekroczyła 2,5-krotnie zapotrzebowanie oczyszczalni ścieków. Energia ciepła z agregatu wraz z odzyskiem ciepła ze ścieków oczyszczonych w połączeniu z innymi źródłami ciepła odpadowego z cukrowni pokryły w pełni zapotrzebowanie oczyszczalni na ciepło. Działania te ograniczają emisję gazów cieplarnianych do atmosfery, zwiększają udział energii odnawialnej w ogólnym zużyciu energii brutto, są przykładem energetyki rozproszonej, redukują koszty uzyskania uprawnień do emisji dwutlenku węgla dla cukrowni.

Prace B+R obejmują rozwój i skalowanie dwuetapowej instalacji produkcji biowodoru i biometanu na drodze beztlenowego rozkładu melasy. W IBB PAN opracowano know-how i ciągły układ w skali laboratoryjnej o poziomie gotowości technologicznej TRLIII jako system dwóch bioreaktorów, w których prowadzone są hodowle wyselekcjonowanych wspólnot bakterii ciemnej fermentacji i wspólnoty mikroorganizmów aceto- i metanogennych w warunkach mezofilnych. Na terenie cukrowni powstały dwie analogiczne instalacje TRLIV i TRLV, podjęto prace nad oczyszczaniem, magazynowaniem i zastosowaniem biowodoru.

Cukrownie mogą zatem stać się producentem biopaliw gazowych obniżając swój ślad węglowy.

AKTYWNOŚĆ ABAMEKTYNY *STREPTOMYCES AVERMITILIS* DLA ROŚLINOŻERNYCH GĄSIENIC *SPODOPTERA EXIGUA*

Adrianna Taciak¹, Edyta Konecka¹

¹ Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

E-mail: edkon@amu.edu.pl

Bakterie *Streptomyces avermitilis* wytwarzają makrocycliczny lakton – abamektynę o aktywności owadobójczej stosowany w produkcji środków ochrony roślin. Biologiczne metody ograniczania liczebności szkodników roślinożernych stanowią alternatywę dla syntetycznych pestycydów chemicznych co sprawia, że zainteresowanie przyjaznymi dla środowiska bioinsektycydami zwiększa się i intensywnie rozwijają się badania nad naturalnymi czynnikami, które mogą być użyteczne w ochronie roślin. Celem badań było określenie aktywności abamektyny dla światłówki naziemnicy *Spodoptera exigua* z rzędu Lepidoptera – owadziego szkodnika warzyw, zbóż i roślin ozdobnych w uprawach polowych i szklarniowych.

Aktywność insektycydową preparatu GROT (Synthos Agro, Polska) zawierającego bakteryjną abamektynę w stężeniu 18 g/L określono dla *S. exigua*. Bioinsektycyd w różnych stężeniach dodawano do pożywki dla gąsienic w stadium L1. Hodowlę owadów prowadzono w 26°C, przy względnej wilgotności powietrza 40–60% i fotoperiodzie 18:6 (dzień:noc). Liczbę martwych gąsienic notowano co 24 godz. przez siedem dni. Stężenie preparatu abamektyny powodujące 50% śmiertelności wśród owadów (LC₅₀) obliczono z wykorzystaniem programu BioStat 2009 Professional 5.8.4 (AnalystSoft, Kanada).

Abamektyna była toksyczna dla gąsienic światłówki naziemnicy. Wykazała wysoką skuteczność w ograniczaniu liczebności *S. exigua* w czasie 96 godz. – przy zastosowaniu 2 µg substancji na gąsienicę zaobserwowano 93% śmiertelności wśród owadów. Wartość LC₅₀ abamektyny dla insektów była równa $1,2 \times 10^{-3}$ mg/ml (1,2 µg/ml). Wysoka aktywność insektycydowa preparatu abamektyny wskazuje na jego potencjalną użyteczność w ochronie upraw roślin. Substancja jest pochodzenia naturalnego, nie ma negatywnego wpływu na środowisko i inne organizmy niż szkodniki. Badania wpisują się w nurt poszukiwań nowych rozwiązań w ochronie roślin obejmujących stosowanie preparatów nieszkodliwych dla organizmów pożytecznych i przyjaznych dla środowiska przy jednoczesnej wysokiej ich skuteczności w ograniczaniu liczby owadów roślinożernych.

OCENA ZDOLNOŚCI PROMOCJI KIEŁKOWANIA NASION MARCHWI ZWYCZAJNEJ (*DAUCUS CAROTA* L.) PRZEZ RYZOBAKTERIE WYKAZUJĄCE ZDOLNOŚĆ DO SOLUBILIZACJI FOSFORU I SYNTEZY AMONIAKU

Anna Mischke¹, Angelika Fiodor¹

¹ Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiskowej, Uniwersytet Warszawski, Polska

E-mail: mischke.anna@googlemail.com

Doniesiono, że ryzobakterie promujące wzrost roślin (PGPR) wspomagają wzrost roślin na różne sposoby. Mechanizmy te obejmują zwiększenie dostępności fosforu poprzez jego solubilizację oraz produkcję amoniaku, który jest łatwo dostępnym źródłem azotu. W poszukiwaniu wydajnych szczepów PGPR o wielu działaniach wyizolowano łącznie 33 izolaty bakteryjne z różnych gleb ryzosfery wybranych roślin uprawnych tj. żyta, owsa, marchwi, buraków i pietruszki, uprawianych w północno-wschodniej Polsce. Na podstawie jakościowych i ilościowych badań cech sprzyjających wzrostowi roślin wyselekcjonowano sześć najbardziej obiecujących szczepów, a następnie przeprowadzono ilościową ocenę zdolności do solubilizacji produkcji fosforu (P) z $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ i amoniaku (NH_3) metodą spektroskopii. Badane izolaty należące do gatunków *Klebsiella*, *Pseudomonas* i *Serratia* zostały przebadane *in vitro* pod kątem wzmocnienia kiełkowania nasion marchwi metodą inokulacji komórkami bakteryjnymi. Względną szybkość kiełkowania nasion oceniano po 6 dniach inkubacji na wilgotną bibułę filtracyjną w 22°C (16/8h, dzień/noc). Wyniki analizy ilościowej wskazują, że wszystkie izolaty bakteryjne posiadają zdolność solubilizacji fosforu, a ponadto są zdolne do wytwarzania amoniaku. Solubilizację fosforu wykazał najsilniej *K. aerogenes* AF3II1 po 8 dniach, ponieważ stężenie przyswajalnego P wzrosło z 79,91 ppm w 2. dniu do 104,44 ppm. Najniższe stężenie P po 8 dniach zaobserwowano dla *S. plymuthica* EDC15, przy czym stężenie wolnego P wyniosło 30,52 ppm w dniu 8. Najwyższy poziom produkcji amoniaku można zaobserwować po 5 dniach inkubacji dla wszystkich szczepów z wyjątkiem *S. plymuthica* EEPC5, dla którego zanotowano najwyższe stężenie amoniaku w dniu 7. *S. marcescens* AF8I1 wykazał najwyższą produkcję amoniaku po 5 dniach (17,40 ppm). Poprawę szybkości kiełkowania nasion marchwi wykazało 5 z 6 izolatów, zaś najlepsze wyniki wykazała aplikacja szczepu AF8I1 (157%). Wnioskujemy, iż konieczna jest dalsza ocena izolatów wykazujących wielorakie właściwości promujące wzrost roślin w układzie gleba-roślina, aby określić ich skuteczność w promocji wzrostu marchwi zwyczajnej w różnych warunkach środowiskowych.

STRUKTURA ANTYGENU O-SWOISTEGO *AEROMONAS ENCHELEIA* A4 REPREZENTUJĄCEGO NOWĄ SEROGRUPĘ AEROMONADÓW PGO1, DOMINUJĄCĄ W POLSKIEJ AKWAKULTURZE

Maria Kurzylewska¹, Katarzyna Dworaczek ¹, Anna Turska-Szewczuk¹

¹ Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Instytut Nauk Biologicznych UMCS, Polska

E-mail: mariakurzylewska@wp.pl

Wstęp: Pałeczki *Aeromonas* sp. są głównym czynnikiem etiologicznym chorób ryb, prowadzącym do znacznych strat ekonomicznych w akwakulturze. Wśród czynników wirulencji bakterii *Aeromonas* ważną rolę w patogenezie odgrywa lipopolisacharyd (LPS). Ekspozowany na zewnątrz składnik tej molekuly to polisacharyd O-swoisty (O-PS, antygen O), który pełni rolę antygeny powierzchniowego bakterii i warunkuje ich swoistość serologiczną. Cel: badania strukturalne antygeny O szczepu *A. encheleia* A4. Metody: w badaniach zastosowano chemiczne metody analityczne, chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (GC/MS) oraz spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H i ¹³C NMR. Wyniki: Analiza składników polisacharydu O-PS w postaci octanów alditoli oraz acetylowanych metylowych glikozydów cukrów techniką GC/MS wykazała, że zawiera on głównie: 6-deoksymannozę (Rha), 2-amino-2,6-dideoksyglukozę (QuiN) i 3-amino-3,6-dideoksygalaktozę (Fuc3N), z amidowo-związanym w pozycji C-3 niecukrowym podstawnikiem, kwasem 3-hydroksymasłowym (Fuc3NHb). Konfigurację absolutną L-Rha i D-QuiN oraz konfigurację R kwasu 3-hydroksymasłowego (Fuc3RNB) określono techniką GC/MS, odpowiednio peracetylowanych pochodnych S(+)-oktylowych glikozydów oraz O-TMSi pochodnych oktylowych estrów, a konfigurację D-Fuc3N ustalono na podstawie wpływu efektów glikozylacji na wartości przesunięć chemicznych ¹³C NMR. Analiza metylacyjna pozwoliła na określenie sposobu podstawienia reszt cukrowych w podjednostce O-PS. Wykazano, że budują ją trzy reszty ramnozy podstawione przy węglu (i) C-4, (ii) C-3 oraz (iii) C-2 i C-3, reszta QuiN podstawiona przy C-3, natomiast resztę α-D-Fucp3NRNB zidentyfikowano, jako terminalną. Na widmie ¹H NMR zidentyfikowano m.in. sygnały protonów (i) grup CH₃ 6-deoksyheksoz (d 1,21-1,36) i H-4 kwasu 3-hydroksymasłowego (d 1,27), (ii) amidowo-związanej grupy acetylowej i acylowej aminocukrów (d 2,15; d 2.52), oraz (iii) sygnały protonów anomerycznych (d 4,76-5,17). Analiza widm 2D homo- i heterojądrowych NMR uzupełniła badania strukturalne podjednostki. Uzyskane wyniki wykazały, że antygen O-swoisty *A. encheleia* A4 składa się z rozgałęzionej, powtarzającej się podjednostki pentasacharydowej, o następującej strukturze: [②][α-D-Fucp3NRNB-(1③)]-α-L-Rhap-(1③)-β-L-Rhap-(1④)-α-L-Rhap-(1③)-β-D-QuiNac-(1⑤). Wnioski: Uzyskana struktura O-PS w nie została dotychczas zidentyfikowana i jest unikalna zarówno wśród antygenów O-swoistych *Aeromonas* sp. jak i innych gatunków bakterii.

CZYNNIKI WIRULENCJI WIELOLEKOOPORNYCH SZCZEPÓW Z GATUNKU *ESCHERICHIA COLI* IZOLOWANYCH Z WÓD SŁODKICH

Agata Cupryniak¹, Marta Potrykus¹, Bartosz Rybak¹

¹ Zakład Toksykologii Środowiska, Gdański Uniwersytet Medyczny, Polska

E-mail: cupryniakagata@gumed.edu.pl

Bakterie z gatunku *Escherichia coli* to bakterie wykazujące się dużą bioróżnorodnością. Niektóre są komensalami, naturalnie zasiedlającymi jelita ludzi i zwierząt, podczas gdy inne są patogenami odpowiedzialnymi za szeroki zakres infekcji jelitowych i pozajelitowych. Zakażenie bakteriami z gatunku *E. coli* to jedna z głównych przyczyn posocznicy, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych u noworodków, infekcji dróg moczowych, zapalenia pęcherza moczowego czy biegunki podróżnych. Ponadto leczenie infekcji spowodowanych bakteriami z gatunku *E. coli* bywa utrudnione poprzez coraz szersze pojawianie się zjawiska lekooporności wśród tej grupy bakterii. Woda stanowi główny rezerwuuar oraz miejsce transmisji lekoopornych patogenów, co jest problem również w krajach wysokorozwiniętych. W latach 2019-2020 pobrano próbki wody z rzeki Wisły z czterech punktów: Warszawa, Płock, Mikoszewo oraz Kieźmark, z których wyizolowano 59 szczepów bakterii z gatunku *E. coli*. Celem pracy było filotypowanie genetyczne wyizolowanych szczepów oraz określenie lekowrażliwości i cech fenotypowych badanych izolatów. Wśród zbadanych szczepów 11 szczepów należało do filogrupy B2 charakteryzującej się największą liczbą cech wirulencji, natomiast 4 kolejne szczepy przyporządkowano do filogrupy D również o dużym potencjale patogennym. W grupie antybiotyków stosowanych w weterynarii 41 szczepów było opornych na co najmniej jeden antybiotyk, natomiast w grupie antybiotyków stosowanych u ludzi 18 szczepów sklasyfikowano jako wielolekooporne. Badane szczepy wykazały największą lekooporność w przypadku penicylin (20 szczepów), antybiotyków aminoglikozydowych (26 szczepów) oraz aminocyklitolii (19 szczepów). Wszystkie szczepy były wrażliwe na działanie karbapenemów. Ponadto 8 szczepów sklasyfikowano jako producentów ESBL. Zdolność szczepów do ruchu oraz wytwarzania biofilmu różniła się w zależności od temperatury. Ogólnie szczepy były bardziej ruchliwe i wytwarzały więcej biofilmu w temperaturze 37°C, co sugeruje, że mogą mieć większą zdolność do zaatakowania gospodarza, niż przetrwania w środowisku. Otrzymane wyniki sugerują obecność patogennych, lekoopornych szczepów bakterii z gatunku *E. coli* w środowisku wodnym, które mogą stanowić potencjalne zagrożenie dla zdrowia człowieka.

BIORÓŻNORODNOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA W POWIETRZU WOKÓŁ FARMY INTENSYWNEGO CHOWU DROBIU

Oliwia Patrycja Ronowicz¹, Marta Potrykus¹, Bartosz Rybak¹

¹ Zakład Toksykologii Środowiska, Gdański Uniwersytet Medyczny, Polska

E-mail: oliwia.ronowicz@gumed.edu.pl

Ze względu na zwiększoną działalność wielkoprzemysłowych ferm drobiu wywierają one negatywny wpływ na komponenty środowiska. W ramach przeprowadzonych badań zostało zbadane powietrze wokół fermy intensywnego chowu drobiu w kontekście rozprzestrzeniania się zanieczyszczeń mikrobiologicznych. W badaniach skupiono się na określeniu, poprzez wybrane testy fenotypowe, bioróżnorodności mikroorganizmów występujących w powietrzu w wyznaczonych punktach. Mikroorganizmy zawieszone w powietrzu były pobierane na podłoża aktywną metodą aspiracji w okresie letnim i jesiennym. Do określenia bioróżnorodności mikroorganizmów wykorzystano 95 szczepów wyizolowanych na podłożu wybiórczo-różnicującym dla bakterii z rodzaju *Staphylococcus*. W okresie letnim i jesiennym panowały skrajne warunki atmosferyczne, latem temperatura wynosiła 31,3°C bez opadów, natomiast jesienią 10,9°C z lekkimi opadami deszczu. Spośród wyizolowanych szczepów 74 wykazywało wielolekooporność. Najwięcej szczepów było opornych na spektomycynę oraz klindamycynę. Z wykorzystaniem techniki spektrometrii mas zidentyfikowano badane szczepy do gatunków takich jak *S. aureus*, *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. condimenti*, *S. gallinarum*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. warneri*, *S. vitulinus*, *S. xylophilus*. 93 szczepy zidentyfikowano jako formy ziarniste Gram-dodatnie. Badane szczepy wykazywały dużą zdolność do pływania (3% agar) oraz pełzania (8% agar). Zjawisko hemolizy zaobserwowano dla 33 szczepów. Ponadto zaobserwowano zdolność szczepów do lipolizy, proteolizy oraz produkcji amylaz a także zdolność większości szczepów do tworzenia biofilmu. Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić obecność i bioróżnorodność mikroorganizmów w powietrzu. Najczęściej identyfikowanymi drobnoustrojami były bakterie z rodzaju *Staphylococcus* (80 szczepów).

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2019/35/B/NZ7/04394 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

BIOTRANSFORMACJA OLEJU NAPĘDOWEGO PRZEZ DROBNOUSTROJE IZOLOWANE ZE ZŁOŻ WĘGLA BRUNATNEGO

Katarzyna Starzec¹, Paulina Supel¹, Joanna Rak¹, Joanna Brzeszcz², Piotr Kapusta², Paweł Kaszycki¹

¹ Katedra Biologii Roślin i Biotechnologii, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Polska

² Zakład Mikrobiologii, Instytut Nafty i Gazu - Państwowy Instytut Badawczy w Krakowie, Polska

E-mail: k.starzec@urk.edu.pl

Złóża węgla brunatnego, będącego pochodną lignitu, stanowią źródło mikroorganizmów autochtonicznych wykazujących rzadkie i wyspecjalizowane szlaki metaboliczne przemian złożonych związków organicznych. Efektem przystosowania do życia w nietypowym środowisku może być obecność specyficznych enzymów odpowiedzialnych za rozkład węglowodorów zarówno alifatycznych, jak i aromatycznych. Celem pracy była ocena możliwości biotransformacji oleju napędowego przez dwa szczepy wyizolowane ze złóż węgla brunatnego. Przeprowadzone wcześniej badania mikrobiologiczne węgla brunatnego pozwoliły na pozyskanie z próbek węgla brunatnego zestawu rodzimych drobnoustrojów, spośród których wyselekcjonowano dwa szczepy należące do rodzaju *Rhodococcus*, wykazujące wysoki potencjał bioremediacyjny względem oleju napędowego o stężeniu 1 g/L. Szczepy te oznaczono jako CUP11 i CUP17. W doświadczeniu trwającym 14 dni testowano biotransformację ksenobiotyków oleju napędowego podanego w zakresie stężeń 1–10 g/L. Analizowano zarówno zmiany liczebności drobnoustrojów, jak i stężenia węglowodorów. Udowodniono, że badane szczepy cechowały się zróżnicowaną aktywnością metaboliczną oraz zdolnością biodegradacji składników oleju napędowego, wynoszącą dla CUP11 46% przy stężeniu 10 g/L i sięgającą 100% przy stężeniu 1 g/L. Dla szczepu CUP17, przy stężeniach oleju napędowego 10 g/L i 1 g/L uzyskano wydajności degradacji, odpowiednio, 90% i 96%. Nieznacznie niższą skutecznością charakteryzowała się bikultura złożona z obu szczepów, dla której wydajność degradacji wynosiła, odpowiednio 70% i 92%. Nie odnotowano znaczącego spadku liczebności mikroorganizmów w żadnym wariantie doświadczalnym. Wyniki wskazują na duży potencjał zastosowania testowanych szczepów w bioremediacji środowiskowych zanieczyszczeń olejem napędowym.

Prezentowana praca jest samodzielnym opracowaniem jej autora/autorów.

CHARAKTERYSTYKA REZYSTOMU WODY I PIASKU NADBRZEŻA MORZA BAŁTYCKIEGO

Sebastian Nowotny¹, Wiktoria Kapłon¹, Julia Zrąbkowska¹, Ryszard Koczura¹, Joanna Mokracka¹

¹ Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

E-mail: joanna.mokracka@amu.edu.pl

Rezystom to zbiór wszystkich genów warunkujących oporność na antybiotyki i ich prekursorów występujących u patogenicznych i niepatogenicznych mikroorganizmów. Ekosystemy wodne, zwłaszcza zanieczyszczone, stanowią idealne środowisko dla rozprzestrzeniania się genów oporności na antybiotyki, przekazywania ich na drodze horyzontalnego transferu z bakterii chorobotwórczych do środowiskowych i *vice versa*. Bałtyk jest płytkim, niewielkim akwenem, co łącznie ze słabą wymianą wody i wpływem gospodarki człowieka sprawia, że jest jednym z najbardziej zanieczyszczonych mórz na świecie. Celem badań była częściowa charakterystyka rezystomu wody i piasku pobranych z dwóch lokalizacji w Kołobrzegu sezonowo przez rok.

Oznaczono występowanie genów warunkujących oporność na β -laktamy, tetracykliny i plazmidowo warunkowanej oporności na chinolony w genomach bakterii i metagenomowym DNA. Szczepy *Enterobacteriales* odporne na β -laktamy selekcjonowano na podłożu Chromocult® Coliform Agar z dodatkiem cefotaksymu, heterotrofy odporne na tetracykliny i chinolony na podłożu agarowym BHI z dodatkiem, odpowiednio tetracykliny i ciprofloksacyny. Geny oporności na antybiotyki w genomowym DNA wyizolowanym ze szczepów bakterii lekoopornych oznaczano metodą PCR, natomiast liczbę kopii wybranych ARG w metagenomowym DNA metodą dPCR.

W wodzie jak i piasku stwierdzono występowanie szczepów opornych na badane grupy antybiotyków. W genomach *Enterobacteriales* opornych na β -laktamy stwierdzono geny *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} i *bla*_{CTX}. Oporność na chinolony była kodowana przez plazmidowe geny *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* i *aac(6')-Ib-cr*, a izolatów opornych na tetracyklinę wykryto geny *tetA*, *tetB* i *tetM*.

W metagenomowym DNA wody i piasku liczba kopii wybranych ARG była zróżnicowana i wynosiła: dla:

*bla*_{CTX} – $3,2 \times 10^1$ kopii /ml wody i $2,9 \times 10^5$ /g osadu,
*bla*_{TEM} – $1,4 \times 10^1$ kopii/ml wody, $4,0 \times 10^6$ kopii/g osadu,
tetA – $2,0 \times 10^1$ kopii/ml wody, $2,7 \times 10^7$ kopii/g osadu,
tetB – $5,2 \times 10^0$ kopii/ml wody, $3,7 \times 10^5$ kopii/g osadu,
qnrB – $1,6 \times 10^2$ kopii/ml wody, $3,5 \times 10^7$ kopii/g osadu,
qnrD – $2,3 \times 10^0$ kopii/ml wody, $6,5 \times 10^5$ kopii/g osadu.

Nie stwierdzono znaczących różnic w liczbie kopii genów oporności w zależności od pory roku. Obecność bakterii opornych na antybiotyki oraz genów oporności w metagenomowym DNA wody i piasku kąpielisk morza Bałtyckiego stwarza zagrożenie dla zdrowia publicznego i zwiększa ryzyko związane z rozprzestrzenianiem się oporności w populacjach mikroorganizmów.

CZY TELEFONY KOMÓRKOWE PACJENTÓW HOSPITALIZOWANYCH SĄ WEKTOREM TRANSMISJI DROBNOUSTROJÓW?

Edyta Hendzel-Ochałek¹, Natalia Gębka¹, Karolina Jędrzejczak¹, Anna Mertas²

¹ Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i Immunologii w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska

² Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska

E-mail: amertas@sum.edu.pl

W celu odpowiedzi na pytanie, czy telefon komórkowy pacjenta może być wektorem przeniesienia potencjalnie chorobotwórczych mikroorganizmów do oraz z środowiska szpitalnego, przeprowadzono badania mikrobioty zasiedlającej powierzchnię telefonów komórkowych należących do 20 pacjentów oddziału kardiologii oraz 23 pacjentów oddziału dermatologii. Materiał do badań stanowiły wymazy z powierzchni badanych telefonów pobierane w dniu przyjęcia pacjenta do szpitala oraz po 2-3 dniach pobytu pacjenta w szpitalu. Wymazy pobierano jałowymi wymazówkami zwilżonymi jałowym roztworem 0,9% NaCl. Posiew, izolację i identyfikację gatunkową drobnoustrojów przeprowadzono przy użyciu klasycznych metod badań mikrobiologicznych. Z powierzchni telefonów komórkowych pacjentów oddziału kardiologii w dniu ich przyjęcia do szpitala wyizolowano 42 szczepy drobnoustrojów należące do 14 gatunków, a w badaniu przeprowadzonym po 2-3 dniach wyizolowano 33 szczepy drobnoustrojów należące do 15 gatunków. Natomiast z telefonów komórkowych pacjentów oddziału dermatologii w dniu ich przyjęcia do szpitala wyizolowano 42 szczepy drobnoustrojów należące do 13 gatunków, a w badaniu przeprowadzonym po 2-3 dniach wyizolowano 58 szczepów drobnoustrojów zaliczonych do 14 gatunków. Zaobserwowano zróżnicowanie gatunkowe mikrobioty telefonów komórkowych pacjentów obu oddziałów ulegające modyfikacji w czasie pobytu pacjentów w szpitalu. Stwierdzono również na powierzchni telefonów obecność metycylinoopornych gronkowców *Staphylococcus epidermidis* MRCNS oraz *Staphylococcus haemolyticus* MRCNS w dniu przyjęcia lub po 2-3 dniach pobytu pacjenta w szpitalu. Obserwacja ta dowodzi, że telefony komórkowe pacjentów hospitalizowanych mogą być wektorem transmisji potencjalnie chorobotwórczych drobnoustrojów zarówno do, jak i z środowiska szpitalnego. Zjawisko to wskazuje na bezwzględną konieczność dezynfekcji telefonów komórkowych pacjentów w momencie ich przyjęcia do szpitala, podczas hospitalizacji oraz po jej zakończeniu.

Nie stwierdzono znaczących różnic w liczbie kopii genów oporności w zależności od pory roku. Obecność bakterii opornych na antybiotyki oraz genów oporności w metagenomowym DNA wody i piasku kąpielisk morza Bałtyckiego stwarza zagrożenie dla zdrowia publicznego i zwiększa ryzyko związane z rozprzestrzenianiem się oporności w populacjach mikroorganizmów.

ZMIENNOŚĆ STRUKTURY ZBIOROWISK GRZYBÓW W ZDEGRADOWANEJ GLEBIE NAWOŻONEJ BIONAWOZEM FOSFOROWYM

Mateusz Mącik¹, Agata Gryta¹, Lidia Sas-Paszt², Magdalena Frąc¹

¹ Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina, Instytut Agrofizyki PAN, Polska

² Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, Polska

E-mail: m.macik@ipan.lublin.pl

Badania nad różnorodnością zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających gleby uprawne stanowią jeden z kluczowych obszarów prac na rzecz rozwoju zrównoważonych praktyk zarządzania glebą. Ocena aktywności i bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych jest niezwykle istotna ze względu na nieoceniony wkład mikrobiomu i mykobioty w prawidłowe funkcjonowanie agroekosystemów, a zmiany w parametrach mikrobiologicznych gleb mogą odzwierciedlać ich stan ekologiczny. Celem pracy było określenie zmian w różnorodności strukturalnej zbiorowisk grzybów w zdegradowanej glebie pod wpływem fosforowego nawozu mineralnego wzbogaconego mikrobiologicznie. Doświadczenie polowe prowadzone w latach 2018-2019, pod uprawą kukurydzy, obejmowało dawkę optymalną bez wzbogacenia mikrobiologicznego (FC), dawkę optymalną wzbogaconą mikrobiologicznie (FA100) oraz dawkę zredukowaną o 40% wzbogaconą mikrobiologicznie (FA60). Próbkę gleby do badań pobierano w następujących terminach: jesień 2018 (A18), lato 2019 (S19) oraz jesień 2019 (A19). Struktura zbiorowisk grzybów została określona dzięki analizie polimorfizmu długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych (t-RFLP). Identyfikacji mikroorganizmów na podstawie wielkości wybranych terminalnych fragmentów restrykcyjnych (T-RFs) dokonano przy użyciu narzędzia bioinformatycznego TRiFLe. Uzyskane wyniki wskazują, że na strukturę zbiorowisk grzybów miał wpływ nie tylko sposób nawożenia, ale również termin poboru próbek gleby. Najwyższą liczbę T-RFs zanotowano dla wariantów FA100(A18) i FA60(A18), a wynosiła ona, odpowiednio, 36 i 37 fragmentów. Rdzeń mykobioty stanowiło 40 T-RFs, natomiast dla wariantów FC, FA100 i FA60 uzyskano, odpowiednio, 6, 2 i 3 unikalne fragmenty restrykcyjne. Identyfikacja przy użyciu narzędzia TRiFLe ujawniła obecność grzybów stymulujących wzrost i rozwój roślin (*Penicillium* spp.), saprotrofów zaangażowanych w rozkład materii organicznej (*Cortinarius* spp., *Conocybe* spp.), mikroorganizmów uczestniczących w biokontroli populacji patogenów (*Metarhizium* spp., *Trichoderma* spp.), grzybów mykoryzowych (*Boletus* spp.) oraz mikroorganizmów zaangażowanych w proces bioremediacji (*Solicoccozyma* spp.).

Źródło finansowania: Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017n

BIODEGRADACJA POLIMERÓW PLA PRZEZ MEZOFILNE BAKTERIE

Anna Dobrowolska¹, Katarzyna Zarobkiewicz¹, Robert Przekop², Wojciech Białas¹, Anna Sip¹

¹ Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Polska

² Wielkopolskie Centrum Zaawansowanych Technologii, Polska

E-mail: anna.dobrowolska@up.poznan.pl

PLA czyli poli(kwas mlekowy) jest biodegradowalnym polimerem należącym do grupy poliestrów alifatycznych. Substratem do jego produkcji jest kwas mlekowy, który może być otrzymywany z surowców odnawialnych, na przykład melasy lub mączki kukurydzianej. Klasyczny polimer PLA ma strukturę twardą, lecz łamliwą. Przez wprowadzenie dodatkowych podstawników do łańcucha poli(kwasu mlekowego) możliwe jest jednak otrzymanie materiałów o większej wytrzymałości, elastyczności i odporności na łamanie. Celem pracy było ustalenie czy modyfikacja PLA podstawnikami wzmacniającymi wytrzymałość ma wpływ na jego biodegradowalność. Najpierw z kompostów, gleby oraz osadów czynnych wyizolowano pojedyncze mikroorganizmy oraz całe konsorcja. Następnie zbadano ich uzdolnienia enzymatyczne. Wybrane mikroorganizmy wykorzystano do rozkładu polimerów PLA:PET. Efektywność tego procesu określono na podstawie zmiany masy badanych polimerów oraz ilości uwalnianego kwasu mlekowego. Dodatkowo z zastosowaniem mikroskopii elektronowej oceniono zmiany jakie zaszły w strukturze badanych materiałów. Ustalono, że największą zdolnością do rozkładu badanych polimerów cechowały się mezofilne bakterie z rodzajów *Bacillus* i *Pseudomonas*. Na wytwarzane przez nie enzymy najbardziej odporne były polimery PLA:PET (30:70). Po 96 dobach największe ubytki masy oraz zmiany w strukturze folii i w mechanice ich degradacji zaobserwowano w próbkach PLA:PET 2,5% o grubości >2,5mm. W porównaniu z klasycznymi polimerami PLA były one jednak słabiej rozkładane przez bakterie mezofilne.

BIODEGRADACJA ZIELENI MALACHITOWEJ PRZEZ *PSEUDOMONAS* SP. 16A1

Magdalena A. Karaś¹, Sylwia Hasiec¹, Sylwia Wdowiak-Wróbel¹, Monika Marek-Kozaczuk¹

¹ Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Polska

E-mail: magdalena.karas@mail.umcs.pl

Zieleń malachitowa (MG) jest syntetycznym barwnikiem z klasy trifenylometanowych, która zaliczana jest do trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO). Jest powszechnie stosowana, co prowadzi do skażenia naturalnych ekosystemów. Ponieważ wykazuje toksyczne działanie na komórki różnych organizmów istnieje pilna potrzeba eliminacji jej ze środowiska. Jedną z metod usuwania MG jest biodegradacja z udziałem szczepów należących do rodzaju *Pseudomonas*. Celem pracy była selekcja szczepu o potencjale biodegradacyjnym w stosunku do MG, a następnie optymalizacja procesu i ocena ryzyka stosowania wybranego izolatu, jako szczepionki doglebowej. W tym celu dokonano przeglądu 27 endofitycznych szczepów *Pseudomonas* spp. pozyskanych z różnych roślin i stanowisk o niskim wskaźniku urbanizacji i dodatkowo o fenotypie promującym wzrost roślin. Wśród nich szczep 16A1 wyizolowany z *Chamaecytisus albus* odbarwiał zieleń malachitową na poziomie 87,67 % w ciągu 24 godz. w optymalnych warunkach. Optymalizacji procesu dokonano w oparciu o eksperymenty jednoskładnikowe, a także metodologię powierzchni odpowiedzi. Interakcje zmiennych niezależnych zaprojektowano z zastosowaniem planu Box-Behnkena. Proces degradacji MG potwierdzano rejestrując widmo absorpcji UV-Vis metabolitów uzyskanych w obecności 16A1, których obniżoną fitotoksyczność wykazano na modelu lucerny siewnej (*Medicago sativa* L.). Na biotechnologiczną przydatność szczepu 16A1 wskazywała również zdolność do dekoloryzacji wybranych barwników azowych oraz antrachinonowych.

LIPIDY BŁON PĘCHERZYKÓW WIELOLAMELLARNYCH UWALNIANYCH DO ŚRODOWISKA PRZEZ *ACANTHAMOEBA* *CASTELLANII*

Magdalena Anna Karaś¹, Anna Turska-Szewczuk¹, Barbara Łotocka²

¹ Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Polska

² Katedra Botaniki Instytutu Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Polska

E-mail: magdalena.karas@mail.umcs.pl

Kosmopolityczne ameby z rodzaju *Acanthamoeba* pełnią ważne funkcje w wielu ekosystemach, ale też mogą być oportunistycznymi patogenami odpowiedzialnymi za ziarniniakowe zapalenie mózgu i amebowe zapalenie rogówki. Pomimo wielu lat badań nad fizjologią pełzaka i czynnikami jego patogeniczności wiedza na ten temat jest ciągle niepełna. Celem pracy była analiza lipidów pęcherzyków wielowarstwowych (MLB) uwalnianych przez *A. castellanii* do środowiska w kulturach monoksenicznych i wskazanie na ich bakteryjne lub amebowe źródło. MLB są błonowymi organellami pochodzenia lizosomalnego produkowanymi podczas trawienia zinternalizowanych bakterii. Cel realizowano poprzez analizę lipidów, wyekstrahowanych z MLB, jak i z komórek bakteryjnych *Klebsiella aerogenes*, z wykorzystaniem technik 1-D i 2-D HPTLC, GC-MS, MALDI-TOF MS/MS. Czystość preparatów MLB, otrzymanych z żywych komórek *A. castellanii*, monitorowano z zastosowaniem mikroskopii TEM. Porównanie składu lipidów oczyszczonych MLB i bakterii wskazało najprawdopodobniej na ich amebowe pochodzenie. Wśród lipidów zidentyfikowanych w *K. aerogenes* dominowały: fosfatydyloetanolamina, kardiolipina, fosfatydyloglicerol i fosfatydyloseryna. Natomiast w MLB obecne były sterole, kardiolipina, lizofosfatydylocholina, fosfatydylocholina i fosfatydyloinozytol. Potwierdzenie pochodzenia amebowego MLB na podstawie profili lipidów, może utorować drogę do lepszego zrozumienia ich znaczenia w przyszłości zarówno dla niepatogennych szczepów środowiskowych, jak i wirulentnych.

Źródło finansowania: NCN 2017/01/XNZ1/01153