III OGÓLNOPOLSKIE SYMPOZJUM MIKROBIOLOGICZNE „METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK”

Abstrakty

WYDZIAŁ BIOTECHNOLOGII I NAUK O ŚRODOWISKU KUL

IUNG

INSTYTUT AGROFIZYKI PAN

UMCS UNIWERSYTET MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ W LUBLINIE

SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO W WARSZAWIE

Lublin, 28-29.06.2018

Redakcja:
Anna Szafranek-Nakonieczna
Wojciech Berus
Anna Pytlak
Agnieszka Wolińska

ISBN 978-83-948570-1-1

Wydawca:
Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II
ul. Konstantynów 1I; 20-708 Lublin

III OGÓLNOPOLSKIE SYMPOZJUM MIKROBIOLOGICZNE
„METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK"
28 – 29 czerwca 2018 r.

Organizatorzy

Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, Instytut Biotechnologii
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina
Instytut Agrofizyki PAN w Lublinie

Zakład Mikrobiologii Rolniczej
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach

Zakład Mikrobiologii Środowiskowej
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

KOMITET NAUKOWY:

Przewodnicząca:

prof. dr hab. Zofia Stępniewska (KUL Lublin)

Członkowie:

dr Artur Banach (KUL Lublin)
prof. dr hab. Wiesław Barabasz (UR Kraków)
dr hab. Mieczysław Kazimierz Błaszczyk (SGGW Warszawa)
dr hab. inż. Maria Chmiel (UR Kraków)
prof. dr hab. inż. Krystyna Cybulska (ZUT Szczecin)
dr Anna Gajda (IUNG Puławy)
dr hab. Patrycja Golińska (UMK Toruń)
prof. dr hab. Adam Jaworski (SAN Łódź)
prof. dr hab. Jan Kucharski (UWM Olsztyn)
dr Agnieszka Kuźniar (KUL Lublin)
prof. dr hab. Wanda Małek (UMCS Lublin)
prof. dr hab. Stefan Martyniuk (IUNG Puławy)
prof. dr hab. Korneliusz Miksch (PS Gliwice)
dr Karolina Oszust (IA PAN Lublin)
prof. dr hab. Zofia Piotrowska-Seget (UŚ, Katowice)
dr Anna Pytlak (KUL Lublin)
dr hab. Anna Sikora (IBB Warszawa)
prof. dr hab. Anna Skorupska (UMCS Lubin)
prof. dr hab. Ewa Skórzyńska-Polit (KUL Lublin)
prof. dr hab. Ryszard Szyszka (KUL Lublin)
prof. dr hab. Jadwiga Wyszkowska (UWM Olsztyn)
dr hab. Urszula Zielenkiewicz (IBB Warszawa)

KOMITET ORGANIZACYJNY:

Przewodnicząca:

dr Agnieszka Wolińska (KUL Lublin)

Członkowie:

dr Anna Gałązka (IUNG Puławy)
prof. dr hab. Magdalena Frąc (IA PAN Lublin)
dr hab. Jolanta Jaroszuk-Ściseł (UMCS Lublin)
dr Agata Goryluk-Salmonowicz (SGGW Warszawa)

Sekretariat konferencji:

dr Anna Szafranek-Nakonieczna (KUL Lublin)
mgr Weronika Goraj (KUL Lublin)

PATRONATY HONOROWE:

dr Krzysztof Żuk
Prezydent Miasta Lublin

JM prof. dr hab. Stanisław Michałowski
Rektor Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

prof. dr hab. Wiesław Oleszek
Dyrektor Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach

prof. dr hab. Cezary Sławiński
Dyrektor Instytutu Agrofizyki PAN w Lublinie

prof. dr hab. Ryszard Szyszka
Dziekan Wydziału Biotechnologiii Nauk o Środowisku KUL

prof. dr hab. Zdzisław Wyszyński
Dziekan Wydziału Rolnictwa i Biologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

PATRONATY NAUKOWE:

Polskie Towarzystwo Fitopatologiczne

Polskie Towarzystwo Genetyczne

Polskie Towarzystwo Gleboznawcze

Polskie Towarzystwo Mikrobiologów

Polskie Towarzystwo Mykologiczne

PRELEGENCI PLENARNI:

PROF. DR HAB. WIESŁAW BARABASZ

Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

DR DOROTA GÓRNIAK

Katedra Mikrobiologii i Mykologii, Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

PROF. DR HAB. ADAM JAWORSKI

Instytut Nauk o Zdrowiu, Społeczna Akademia Nauk w Łodzi

DR HAB. ANDRZEJ MAZUR

Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie

DR HAB. ANNA SIKORA

Zakład Biologii Molekularnej, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN
w Warszawie

Spis treści

REFERATY PLENARNE

Barabasz W, Pikulicka A: Bioróżnorodność mikroorganizmów i ich znaczenie w funkcjonowaniu ekosystemów glebowych 14
Górniak D: Mikrobiom lodowcowy 16
Jaworski A: Szczepionki i szczepienia - jedno z najważniejszych działań prozdrowotnych 18
Mazur A: Podzielone genomy bakteryjne: genomika strukturalna i funkcjonalna *Rhizobium* ... 19
Sikora A: Bioróżnorodność wspólnot mikroorganizmów fermentacji wodorowych i metanowych 20

REFERATY - METAGENOMIKA APLIKACYJNA

Dziurzyński M, Decewicz P, Dziewit Ł: MAISEN – internetowy system do adnotacji (meta)genomów de novo 22
Wilk R, Szychowska K, Karpińska A, Białas W, Wita A, Czaczyk K: Wpływ bakterii z rodzaju Bacillus sp. na poprawę właściwości gleb oraz stymulację wzrostu i rozwoju roślin..... 23
Sas Paszt L, Trzciński P, Lisek A, Derkowska E, Sumorok B, Głuszek S, Frąc M, Przybył M, Weszczak K: Rola pożytecznych mikroorganizmów w uprawie roślin ogrodniczych..... 24
Wierzchowski P, Jankiewicz U, Grubich J, Swiontek Brzezinska M, Kalwasińska A, Grabowska A: Potencjał aplikacyjny lipazy halofilnej bakterii *Nocardiopsis prasina* 25
Nowak-Ziatyk D: Systemy Biolog – od identyfikacji do metabolicznego fenotypowania mikroorganizmów……26

REFERATY - METAGENOMIKA ŚRODOWISK EKSTREMALNYCH

Deja-Sikora E, Kowalczyk A, Baum C, Mercy L, Gołębiewski M, Tyburski J, Hrynkiewicz K: Molekularna identyfikacja wirusa Y ziemniaka (PVY) i jego stężenie w różnych organach ziemniaka..... 28
Kaczmarczyk A, Wagner G, Kucharczyk H, Kucharczyk M, Sell J, Zielińska S: Rola mikrobiomu w kształtowaniu przystosowań do zasiedlania owocników grzybów nadrzewnych przez wybrane gatunki owadów saproksylicznych..... 29
Kalwasińska A, Deja-Sikora E, Burkowska-But A, Szabó A, Felföldi T, Kosobucki P, Krawiec A, Walczak M, Swiontek Brzezinska M: Metagenomy niezwykłych środowisk: solanki ciechocińskie..... 30
Lisek A, Trzciński P, Sas Paszt L: Identyfikacja i charakterystyka bakterii endofitycznych zasiedlających roślinę pustynną Cyperus sp. z możliwością ich wykorzystania w rolnictwie 31
Szymańska S, Hrynkiewicz K, Błaszczyk A, Sikora M, Tyburski J, Gołębiewski M: Wpływ osmoprotektantów na przeżywalność endofitów w liofilizatach roślinnych..... 32
Otlewska A, Rajkowska K, Soto D, Guiamet P, Gutarowska B: Mikroflora archeologicznej ceramiki w analizie metagenomowej 33

REFERATY - NOWOCZESNE METODY BADAŃ I IDENTYFIKACJI BAKTERII

Trzebny A, Słodkowicz-Kowalska A, Dabert M: Czy *Weissella ceti (Firmicutes)* rozprzestrzeniają się za pośrednictwem komarów? 36
Grządziel J, Gałązka A: Metataksonomika w ujęciu najnowszych metod bioinformatycznych na przykładzie bakteryjnych regionów 16S rRNA oraz grzybowych ITS..... 37
Marzec A, Smreczak M, Orłowska A, Trębas P: Znaczenie doustnego szczepienia lisów w zwalczaniu wścieklizny w Polsce..... 38
Kaczmarek J, Latunde-DadaBłąd! Nie zdefiniowano zakładki. **AO, Jędryczka M:** Detekcja i identyfikacja molekularna zarodników grzybów chorobotwórczych wobec roślin, przenoszonych w powietrzu 39
Irzykowski W, Marzec-Schmidt K, Ramzi N, Jędryczka M: Mikrobiom glebowy towarzyszący *Plasmodiophora brassicae*..... 40
Oleńska E, Vangronsveld J, Thijs S, Małek W: Różnorodność genomowa mikrospołeczności ryzosferowej i endofitycznej koniczyny białej zasiedlającej hałdę Zn-Pb w Polsce 41
Pudełko K, Narożna D, Króliczak J, Mądrzak C: Molekularna analiza populacji zasiedlających brodawki korzeniowe soi. 42
Góralska K, Brzeziańska-Lasota E: Oporność wielolekowa grzybów z rodzaju *Candida* na azole po stymulacji metotreksatem – badania pilotażowe..... 43
Narożna D, Pudełko K, Króliczak J, Mądrzak C: Analiza molekularna glebowych populacji mikrosymbiontów łubinu..... 44

REFERATY - METAGENOMIKA A JAKOŚĆ ŚRODOWISKA

Górecki A, Decewicz P, Dziurzyński M, Dziewit Ł: CPDb – nowa baza danych starterów do PCR umożliwiających identyfikację genów oporności na antybiotyki w różnych środowiskach..... 46
Makowska N, Mokracka J: Charakterystyka rezystomu ścieków miejskich..... 47
Kozdrój J: Mikrobiom ryzosferowy roślin transgenicznych w świetle analizy metagenomicznej48

POSTERY - METAGENOMIKA APLIKACYJNA

Detman A, Bucha M, Simoneit BRT, Mielecki D, Piwowarczyk C, Chojnacka A, Błaszczyk M, Jędrysek MO, Marynowski L, Sikora A: Biodegradacja węgla brunatnego w warunkach kwaśnej fermentacji melasy. 50
Giza A, Iwan E, Bomba A, Wasyl D: Wykorzystanie wysokoprzepustowego sekwencjonowania w badaniach metagenomicznych mikroorganizmów 51
Cybulska K, Kokolus A, Oraibi S: Zwalczanie bakterii z rodz. *Enterococcus preparatami* zawierającymi nanocząstki srebra 52
Polak M, Olejnik M, Domańska-Blicharz K, Iwan E: Wzmocnienie pozycji naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Państwowego Instytutu Badawczego w dziedzinie zdrowia zwierząt oraz bezpieczeństwa żywności 53
Iwan E, Giza A, Bomba A, Skarżyńska M, Wasyl D: Praktyczne wykorzystanie metataksonomiki do analizy mikrobiomu zwierząt..... 54
Walter T, Sikora A, Zielenkiewicz U: Analizy taksonomiczne i funkcjonalne metatranskryptomów konsorcjów mikroorganizmów z reaktorów metano- i wodorogennych.55

Gryta A, Frąc M, Oszust K, Pertile G: Różnorodność genetyczna mikroorganizmów w glebach zdegradowanych, nawożonych nawozami mineralnymi wzbogaconymi mikrobiologicznie – założenia i metodyka badań 56
Nowak A, Lenart D, Tyśkiewicz R, Słomka A, Ozimek E, Majewska M, Jaroszuk-Ściseł J: Polimery ścianowe, wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe endofitycznych szczepów F. culmorum posiadających genetyczne determinanty (Tri5) syntezy trichotecenów chemotypu DON 57
Tyśkiewicz R, Kopińska A, Nowak A, Janusz G, Pawlik A, Ozimek E, Majewska M, Jaroszuk-Ściseł J: Porównanie profili fizjologicznych Biolog i tempa wzrostu fitopatologicznych szczepów *Fusarium* i mykopasożytniczych szczepów *Trichoderma* zakwalifikowanych do różnych gatunków na podstawie analiz morfologicznych i sekwencji rRNA 58
Lech T, Otlewska A, Kukuczka J: Analiza metagenomiczna w ocenie bioróżnorodności mikroflory zasiedlającej aleucką parkę z kolekcji syberyjskiej Muzeum Etnograficznego w Krakowie 59
Lisek A, Trzciński P, Sas Paszt L: Identyfikacja bakterii glebowych z rodzaju *Bacillus* jako komponentów biostymulatora na bazie kwasów humusowych..... 60
Pachla A, Wicha M, Ptaszyńska AA, Borsuk G, Grzęda M, Łaniewska-Trokenheim Ł, Małek W: Molekularna taksonomia i filogeneza fruktofilnych bakterii mlekowych wyizolowanych z przewodu pokarmowego pszczoły miodnej (*Apis mellifera*) 61
Patkowska E: Zbiorowiska grzybów i bakterii w glebie spod uprawy marchwi (*Daucus carota* L.) 62
Jamiołkowska A, Patkowska E, Hamood Thanoon A: Zróżnicowanie genetyczne szczepów gatunku *Fusarium oxysporum* przy użyciu metody MP-PCR..... 63
Sas Paszt L, Lisek A, Derkowska E, Sumorok B, Trzciński P: Zróżnicowanie taksonomiczne grzybów endofitycznych roślin wrzosu zwyczajnego *Calluna vulgaris* L. Hull..... 64
Jankiewicz U, Wierzchowski P, Grubich J, Swiontek Brzezinska M, Kalwasińska A: Charakterystyka zewnątrzkomórkowej proteazy halotolerancyjnej bakterii *Bacillus pseudofirmus* 65

POSTERY - METAGENOMIKA ŚRODOWISK EKSTREMALNYCH

Borowik A, Wyszkowska J, Kucharski J: Różnorodność Proteobacteria w glebie zanieczyszczonej BP Ultimate Diesel z technologią ACTIVE obsianej *Elymus elongatus* 68
Borowik A: Różnorodność *Proteobacteria* w glebie obsianej *Elymus elongatus* poddanej presji benzyny bezołowiowej 98 BP Ultimate z technologią ACTIVE..... 69
Decewicz P, Dziurzyński M, Górecki A, Golec P, Górniak D, Poszytek K, Dziewit Ł: Różnorodność bakterii w środowiskach glebowych z okolic Polskiej Stacji Polarnej Hornsund (Arktyka) 70
Górecki A, Holm S, Winkel M, Liebner S, Wagner D, Dziurzyński M, Dziewit Ł, Horn F: Plazmidy bakteryjne i ich ekologiczna rola w arktycznej wiecznej zmarzlinie 71
Cłapa T, Narożna D, Dabert M, Olechnowicz J, Pudełko K: Analiza mikroorganizmów tworzących biofilmy w środowiskach ekstremalnych..... 72
Rajkowska K, Otlewska A, Guiamet P, Gutarowska B: Profil taksonomiczny grzybów zasiedlających metal z XVI–XVIII wieku..... 73
Sujkowska-Rybkowska M, Banasiewicz J., Stępkowski T: Charakterystyka filogenetyczna szczepów *Bradyrhizobium* izolowanych z brodawek korzeniowych *Lotus corniculatus* rosnących na hałdach galmanowych 74

Goraj W, Stępniewska Z, Kieraga I, Trzpil A: Charakterystyka konsorcjum metanotroficznego w warunkach zasolenia 75
Panek J, Frąc M, Gryta A, Bilińska-Wielgus N: Analiza metagenomiczna biogazu produkowanego z kiszonki kukurydzianej i wywaru zbożowego 76
Pikulicka A: Promieniowce (*Actinomycetes*) górskich ekosystemów trawiastych 77
Postery - Nowoczesne metody badań i identyfikacji bakterii
Bucka-Kolendo J, Sokołowska B: MALDI-TOF MS jako alternatywna metoda identyfikacji bakterii fermentacji mlekowej 80
Dekowska A, Bucka-Kolendo J, Sokołowska B: Wpływ temperatury na wzrost bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* podczas przednamnażania – metoda klasyczna i Real – Time PCR 81
Dekowska A, Sokołowska B: Identyfikacja bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* za pomocą PCR-RFLP w oparciu o gen gyrB 82
Głowska E, Filutowska Z, Romanowska K, Dabert M: Mikrobiom ektopasożytniczych roztoczy z rodziny *Syringophilidae* (*Acariformes*: *Prostigmata*) 83
Goryluk-Salmonowicz A, Banasiewicz J, Wachol K, Stępkowski T: Charakterystyka molekularna i filogenetyczna szczepów *Bradyrhizobium* izolowanych z gleb lasów tropikalnych we wschodniej Nigerii 84
Bucka-Kolendo-J, Dekowska A, Sokołowska B: Wpływ matrycy na identyfikację bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* metodą Real Time PCR 85
Liberska J, Trzebny A, Dabert M: Identyfikacja zbiorowisk bakterii przenoszonych przez kleszcze za pomocą sekwencjonowania metagenomu V4 16S rDNA 86
Frączek K, Bulski K, Chmiel MJ, Cendrowska A: Bakteriobiota powietrza w pomieszczeniach gabinetu weterynaryjnego 87
Świecimska M, Wypij M, Carro L, Goodfellow M, Golińska P: Gatunki *Micromonospora* wyizolowane z gleb pustyni Atakama 88
Grządziel J, Gałązka A: Różnorodność grzybów w długoletnim doświadczeniu mikropoletkowym 89
Jach ME, Sajnaga E: Izolacja i identyfikacja rizobiowych i nie-rizobiowych szczepów bakteryjnych zasiedlających brodawki korzeniowe zwyczajnego *Laburnum mesenteroides* 90
Lenart-Boroń A, Chrobak J, Drab D, Hryniewicz I: Występowanie, identyfikacja gatunkowa i oporność na antybiotyki gronkowców z pomieszczeń Rolniczego Centrum Kształcenia Ustawicznego w Czernichowie 91
Ozimek E, Jaroszuk-Ściseł J, Bohacz J, Korniłłowicz-Kowalska T, Hanaka A, Majewska M, Tyśkiewicz R, Nowak A: Synteza fitohormonów i aktywność deaminazy-ACC szczepów z rodzaju *Mortierella* 92
Ozimek E, Jaroszuk-Ściseł J, Bohacz J, Korniłłowicz-Kowalska T, Hanaka A, Majewska M, Słomka A, Nowak A: Przynależność gatunkowa i aktywność metaboliczna szczepów *Mortierella* 93
Wołczańska A, Kolibska M, Mamczarz M, Palusińska-Szysz M: Profil kwasów tłuszczowych mikrocyklicznych grzybów rdzawnikowych 94
Palusińska-Szysz M, Wołczańska A, Kolibska M, Wdowiak S: Kwasy tłuszczowe jako markery diagnostyczne fitopatogennych grzybów mączniakowych. 95
Pawlik A, Janusz G, Frąc M: Dynamika metaboliczna i charakterystyka *Cerrena unicolor* w warunkach hodowli SSF na podłożu z trocin brzozowych 96

Sajnaga E, Skowronek M, Kazimierczak W, Lis M: Molekularna identyfikacja szczepu Citrobacter wyizolowanego z jelita chrabąszcza majowego o zdolnościach antagonistycznych w stosunku do bakterii entomopatogenicznych 97
Świderska-Burek U, Janusz G: Izolacja i identyfikacja molekularna szczepów z rodzaju *Cercospora* z próbek środowiskowych..... 98
Wdowiak-Wróbel S, Marek-Kozaczuk M, Kalita M, Palusińska-Szysz M, Małek W, Chernetskyy M: Analiza filogenetyczna mikrosymbiontów *Ononis arvensis* w oparciu o geny metabolizmu podstawowego 99
Winiarski R: Ocena środowiskowych efektów stosowania różnego rodzaju środków wapnujących w uprawie żyta ozimego 100
Winiarski R: Ocena środowiskowych efektów stosowania różnego rodzaju środków wapnujących w uprawie pszenżyta ozimego 101
Woźniak M, Gałązka A: Endofity bakteryjne roślin uprawnych i chwastów - izolacja i identyfikacja 102
Woźniak M, Gałązka A, Grządziel J, Frąc M: Struktura i różnorodność mikrobiomu korzeni *Paulownia elongata x Paulownia fortunei*..... 103

POSTERY - METAGENOMIKA A JAKOŚĆ ŚRODOWISKA

Baćmaga M, Wyszkowska J, Kucharski J: Struktura bakterii w glebie zanieczyszczonej fungicydami 106
Chmiel MJ, Frączek K, Hryniewicz I: Bakterie w powietrzu wewnętrznym zabytkowych obiektów Krakowa 107
Gajda AM, Czyż EA, Furtak K: Ocena zmian aktywności i różnorodności drobnoustrojów w glebie w różnych systemach uprawy roli 108
Gajda AM, Czyż EA, Furtak K: Ocena zmian w mikrobiologicznej jakości środowiska glebowego jako skutek oddziaływania różnych systemów produkcji roślinnej 109
Gałązka A, Grządziel J, Gawryjołek K, Furtak K: Długoletni wpływ naturalnej bioremediacji na zróżnicowanie genetyczne i funkcjonalne mikrobiomu bakteryjnego w glebach skażonych ropą naftową..... 110
Janczarek M, Lipa P, Kozieł M, Beck Jensen J, Koper P, Dubina M: Wrażliwość szczepów *Rhizobium leguminosarum* wyizolowanych z brodawek korzeniowych koniczyny na wybrane czynniki stresu abiotycznego 111
Janczarek M, Kozieł M, Lipa P, Beck Jensen J, Koper P, Rachwał K: Zdolność szczepów *Rhizobium leguminosarum* do produkcji laktonów 112
Kowalska B, Smolińska U, Czajka A, Markiewicz M: Podatność roślin Brassica na porażenie przez *Plasmodiophora brassicae* na podstawie obserwacji mikro- i makroskopowych korzeni113
Frąc M, Oszust K, Stefanowicz A: Zmiany mykobiomu gleby w wyniku inwazji rdestowca ostrokończystego(Reynoutria japonica) 114
Koczura R, Klimek M, Semkowska A, Mokracka J: Geny warunkujące oporność na tetracykliny w metagenomie wody i osadu rzeki Warty 115
Kuźniar A, Wolińska A, Karczmarzyk K, Kłosok K, Grządziel J, Gałązka A, Stępniewska Z: Bioróżnorodność endofitów zasiedlających różne gatunki pszenicy 116
Mokracka J, Koczura R: Rezystom miejskiego jeziora rekreacyjnego na przykładzie Jeziora Kierskiego 117

Pytlak A, Szafranek-Nakonieczna A, Kubaczyński A, Grządziel J, Gałązka A, Hunicz M, Stępniewska Z: Biotechnologiczny potencjał społeczności mikroorganizmów wyizolowanej z osadu zbiornika zapadliskowego „Szczecin" 118
Majewska M, Król K: Rola wydzielin korzeniowych *Festuca ovina* w desorpcji kadmu unieruchomionego przez organiczne i nieorganiczne sorbenty 119
Majewska M, Wdowiak-Wróbel S, Marek-Kozaczuk M, Nowak A, Jaroszuk-Ściseł J: Charakterystyka i potencjał bioremediacyjny kadmoopornego szczepu *Chryseobacterium* DEM Bc1 120
Szafranek-Nakonieczna A, Pytlak A, Kuźniar A, Onopiuk P, Salwa K, Pawlak K, Grządziel J, Gałązka A, Górski A, Stępniewska Z: Wpływ oksydacji na skład i aktywność konsorcjów metanogenicznych.....121
Oszust K, Frąc M: Skład zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających substraty do fermentacji metanowej oraz osady pofermentacyjne 122
Siczek A, Frąc M, Gryta A, Oszust K, Kalembasa S, Kalembasa D: Zmiany mikrobiomu bakteryjnego w ryzosferze bobiku pod wpływem pentachlorofenolu 123
Siebielec S, Siebielec G, Grządziel J: Analiza zmiany składu mikrobiologicznego składowiska odpadów pohutniczych z zastosowaniem metody elektroforezy w gradiencie środka denaturującego (DGGE). 124
Siebielec S, Siebielec G: Identyfikacja bakterii wiążących azot pochodzących ze składowiska odpadów pohutniczych metodą sekwencjonowania 16S rDNA oraz genotypowanie szczepów metodą PCR-MP..... 125
Tyśkiewicz R, Nowak A, Janusz G, Pawlik A, Majewska M, Jaroszuk-Ściseł J: Synteza glukanaz i chitynaz indukowana ścianą komórkową fitopatogenicznego szczepu Fusarium culmorum przez genetycznie zidentyfikowane szczepy *Trichoderma* spp. (*T. koningiopsis, T. velutinum*) 126
Tyśkiewicz R, Nowak A, Janusz G, Pawlik A, Ozimek E, Majewska M, Jaroszuk-Ściseł J: Aktywność enzymatyczna szlaków odporności roślin stymulowana trzema zidentyfikowanymi genetycznie szczepami *Trichoderma* 127
Wolinowska R, Nowakowska K: Analiza plazmidowego DNA pochodzącego z próbek wody z rzeki Wisły..... 128
Wolińska A, Kuźniar A, Zielenkiewicz U, Banach A, Stępniewska Z, Błaszczyk M: Metagenomy glebowe (rodziny i rodzaje) wskaźnikiem degradacji bioróżnorodności w glebach Lubelszczyzny 129
Wolny-Koładka K: Molekularna i fenotypowa analiza lekooporności szczepów *Escherichia col*i izolowanych z wód użytku ekologicznego „Staw przy Kaczeńcowej" w Nowej Hucie 130
Wolny-Koładka K: Koagulazo-ujemne gronkowce izolowane z ośrodków jazdy konnej jako rezerwuar oporności na antybiotyki 131
Materiały sponsorów 132

REFERATY
PLENARNE

Bioróżnorodność mikroorganizmów i ich znaczenie w funkcjonowaniu ekosystemów glebowych

Wiesław Barabasz[1], Anna Pikulicka[2]

[1]Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie
[2]Państwowa Wyższa Szkoła Wschodnioeuropejska w Przemyślu

Gleba to jedno z najbardziej złożonych naturalnych środowisk, w którym żyje wiele różnorodnych grup systematycznych organizmów wyższych i niższych. Ich zróżnicowanie gatunkowe w środowiskach glebowych jest bardzo duże, a do najważniejszych organizmów, należą drobnoustroje, które wraz z szatą roślinną określają zarówno jej charakter jak i kieru-nek rozwoju. Mikroorganizmy glebowe odznaczają się dużą aktywnością biochemiczną i bio-geochemiczną, a dzięki swym różnorodnym właściwościom i uzdolnieniom fizjologicznym mogą wywierać decydujący wpływ na kształtowanie się różnorodnych procesów w środo-wisku glebowym, co ma decydujące znaczenie w kształtowaniu żyzności i produktywności biologicznej gleb. Drobnoustroje glebowe biorąc udział w różnych procesach biochemicz-nych, związanych z rozkładem i mineralizacją związków organicznych w glebie, uruchamia-niem mineralnych składników pokarmowych i z krążeniem pierwiastków (węgla, azotu, fosforu, siarki i wielu innych) oraz syntezą substancji biologicznie czynnych odgrywają pod-stawową rolę w funkcjonowaniu ekosystemów glebowych. Wyniki wielu badań zarówno mikrobiologicznych, genetycznych jak i biochemicznych wskazują, że w środowiskach glebo-wych może żyć od 1 do 10 mln gatunków bakterii, których funkcja i znaczenie jest nie do końca dokładnie poznana. Wydaje się, że poznanie składu mikrobiocenotycznego drobnoustrojów glebowych oraz bioróżnorodności może wyjaśnić ich znaczenie i rolę jaką one odgrywają w środowisku. Jednakże w wyniku różnych interakcji międzygatunkowych w obrębie ekosystemów, jak i licznych powiązań gatunków z ich otoczeniem, ocena bioróżnorodności ekosystemowej nie jest łatwa. Dlatego też opracowano wiele metod oceny bioróżnorodności, które wykorzystując różne parametry i miary pełnią rolę wskaźników biologicznych (bioindykatorów) i umożliwiają kontrolę stanu badanego ekosystemu i świadczą o aktualnych właściwościach abiotycznych środowiska glebowego. Ponadto wskazują na zmiany zachodzące w strukturach całych zespołów i zbiorowisk organizmów glebowych, w tym strukturę dominacji czy zagęszczenie osobników danego gatunku (zgrupowania) przypadające na jednostkę przestrzeni ekosystemu. Stąd szczegółowa analiza bioróżnorodności, jest tak ważna bo wskazuje czy dany gatunek jest zagrożony, rzadki czy pospolity, oraz jakie jest znaczenie gatunku w ekosystemie.

Biodiversity of microorganisms and their importance in the functioning of soil ecosystems

Soil is one of the most complex natural environments in which many different systematic groups of higher and lower organisms live. Their species diversity in soil environments is very large, and the most important organisms include microorganisms which, together with vegetation, determine its character as well as the direction of development. Soil microorganisms are characterized by high biochemical and bio-geochemical activity, and due to their diverse properties and physiological abilities they can exert decisive influence on the formation of various processes in the soil environment, which is decisive in shaping the fertility and biological productivity of soils. Soil microorganisms taking part in various biochemical processes related to decomposition and mineralization of organic compounds in soil, activation of mineral nutrients and the circulation of elements (carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur and many others) and synthesis of biologically active substances play a role a fundamental role in the functioning of soil ecosystems. The results of many studies, both microbiological, genetic and biochemical indicate that in soil environments can live from 1 to 10 million species of bacteria, whose function and meaning is not fully understood. It seems that understanding the microbiocenotic composition of soil microorganisms and biodiversity may explain their significance and the role they play in the environment. However, as a result of various interspecies interactions within ecosystems as well as the numerous links between species and their surroundings, the assessment of ecosystem biodiversity is not easy. Therefore, many methods have been developed to assess biodiversity, which, using various parameters and measures, act as biological indicators (bioindicators) and enable control of the condition of the studied ecosystem and testify to the current abiotic properties of the soil environment. In addition, they indicate changes in the structures of entire communities and communities of soil organisms, including the structure of domination or density of specimens of a given species (grouping) per unit of ecosystem space. Hence the detailed analysis of biodiversity is so important because it indicates whether a given species is endangered, rare or common, and what is the significance of the species in the ecosystem.

Mikrobiom lodowcowy

Dorota Górniak

Katedra Mikrobiologii i Mykologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Badania ostatnich lat wykazały, że lodowce mogą być traktowane jako odrębne ekosystemy, a ze względu na ich rozległość jako jeden z biomów Ziemi. Oprócz faktu, że stanowią istotną część powierzchni lądu i są rezerwuarem słodkiej wody są również miejscem o znacznej różnorodności biologicznej. Te zlodzone ekosystemy są wyłącznie zasiedlone przez mikroorganizmy, co jest jedną z ich unikalnych cech w porównaniu z pozostałymi biomami ziemskimi (np. tundra, lasy tropikalne, sawanna). W środowisku lodowcowym mikroorganizmy występują w wodzie, warstwie powierzchniowej, zagłębieniach kriokonitowych, litym lodzie jak również na dnie lodowca. Źródła mikroorganizmów dostarczanych na lodowce mogą być zarówno lokalne (otaczające środowisko) jak i globalne (zasilanie powierzchni lodowców drobnoustrojami pochodzącymi z odległych rejonów). W powietrzu i śniegu nad lodowcami zidentyfikowano taksony znajdowane w zimnych środowiskach innych rejonów świata. Potwierdza to koncepcję globalnej dystrybucji ekotypów drobnoustrojów w całej zimnej biosferze. Powierzchnia lodowców pokryta jest pyłem mineralnym i organicznym, który wraz z drobnoustrojami tworzy osad stwarzając dogodne warunki do rozwoju aktywnej mikrobiocenozy. Osad ten zbiera się także w wytopionych zagłębieniach - studzienkach kriokonitowych, które stanowią swoiste „hot spots" na powierzchni lodowców. Warunki w nich panujące umożliwiają powstawanie złożonej mikrobiocenozy, składającej się głównie z fotoautotrofów (sinic, glonów, okrzemek) oraz heterotroficznych bakterii, grzybów, pierwotniaków i wirusów. Procesem warunkującym aktywność mikroorganizmów powierzchni lodowca jest fotosynteza prowadzona przez fotoautotrofy, które z kolei wchodzą w ścisłe interakcje z mikroorganizmami heterotroficznymi zdolnymi do pozyskiwania związków biogennych z mineralnej zawiesiny lodowcowej. W metagenomie środowisk nalodowcowych wśród heterotroficznych bakterii dominują Proteobacteria, szczególnie Alpha i Beta-Proteobacteria, Bacteroidetes i Actinobacteria, ale różnej skali różnice przestrzenne są widoczne między lodowcami. Lokalne czynniki, takie jak geologia zlewni, hydrologia, nachylenie stoku, nawożenie przez ptaki, stanowią źródło różnic w składzie społeczności drobnoustrojów między lodowcami. Metagenom z alpejskich i himalajskich lodowców ujawnił dużą ilość genów związanych z heterotroficzną anoxygeniczną fototrofią. Wykazano również istotną rolę wirusów w kontrolowaniu śmiertelności bakterii i potencjalnym uwalnianiu labilnej rozpuszczonej materii organicznej do sąsiadujących środowisk. Beztlenowe środowisko podlodowcowe zawiera zaskakująco duże ilości szczątków organicznych i związków mineralnych, co stwarza warunki do rozwoju bogatego zespołu mikroorganizmów. Liczebność prokariotów w subglacjalnych osadach dochodzi do 10^{11} w 1g s.m. Występujące tam mikroorganizmy charakteryzują się znaczną funkcjonalną i strukturalną bioróżnorodnością. Wykazano obecność licznych prokariotów degradujących związki organiczne: redukujące siarczany, azotany, żelazo oraz dwutlenek węgla (metanogeny), zdolne do fermentacji beztlenowce a także chemolitoautotrofy. Wynika z tego, że zarówno liczba jak i pula genetyczna mikroorganizmów dostarczanych do sąsiadujących środowisk wraz z wodą roztopową jest pokaźna. Wskazuje to na znaczącą rolę ekosystemów lodowcowych w kształtowaniu lądowych (glebowych i wodnych) mikrobiocenoz środowisk polarnych.

Glacial microbiome

Research in recent years has shown that glaciers can be treated as separate ecosystems, and because of their extent as one of the biomes of the Earth. In addition to the fact that glaciers form an important part of the land area and are a reservoir of fresh water, they are also a place of considerable biodiversity. These glacial ecosystems are populated only by microorganisms, which is one of their unique features compared to other terrestrial biomes (such as: tundra, tropical forests, savanna). In the glacial environment microorganisms occur in water, surface layer, cryoconite holes, solid ice as well as on the bottom of the glacier. Sources of microorganisms delivered to the glacier can be both local (surrounding environment) and global (homing of glaciers with microorganisms from distant regions). In the air and snow above the glaciers, taxa found in the cold environments of other regions of the world have been identified. This confirms the concept of global distribution of ecotypes of microorganisms throughout the cold biosphere. The surface of the glaciers is covered with mineral and organic dust, which together with microorganisms forms a sediment, creating favorable conditions for the development of active microbiocenosis. This sediment is also collected in the cryoconite holes, which are a "hot spots" on the surface of the glaciers. The conditions prevailing in them enable the formation of complex microbiocenosis, consisting mainly of photoautotrophs (cyanobacteria, algae, diatoms), heterotrophic bacteria, fungi and protozoa. The process that determines the activity of microorganisms on the surface of the glacier is photosynthesis conducted by photoautotrophs. These in turn interact closely with heterotrophic microorganisms capable of recovering biogenic compounds from the mineral ice slurry. In the metagenome of the surface habitats of glaciers among heterotrophic bacteria, Proteobacteria predominate, especially Alpha and Beta-Proteobacteria, Bacteroidetes and Actinobacteria, but on different scales spatial differences are visible between glaciers. Local factors such as basin geology, hydrology, slope rating, fertilization by birds are the source of differences in the composition of microbial communities between the glaciers. Metagenomes from alpine and Himalayan glaciers revealed a large number of genes associated with heterotrophic anoxygenic phototrophy. The role of viruses in controlling bacterial mortality and the potential release of labile dissolved organic matter from the glacier to neighboring environments has also been demonstrated. An anaerobic subglacial environment contains surprisingly large amounts of organic debris and minerals, which creates conditions for the development of a rich community of microorganisms. The abundance of prokaryotic cells occurring in subglacial sediments reaches up to 10^{11} x g^{-1} d.m. The microorganisms occurring there are characterized by considerable functional and structural diversity. Numerous microorganisms degrading organic compounds have been found: sulfates, nitrates, iron and carbon dioxide (methanogens), fermentable anaerobes as well as chemolithoautotrophs. It follows that both the number and the genetic pool of microorganisms supplied to neighboring environments together with the meltwater are substantial. This indicates a significant role of glacial ecosystems in the shaping of overland (soil and water) microbiocenoses of polar environments.

Szczepionki i szczepienia - jedno z najważniejszych działań prozdrowotnych

Adam Jaworski

Społeczna Akademia Nauk w Łodzi, ul. Sienkiewicza 9, 90-113 Łódź,

Motto:„Z danych WHO wynika, że co 20 sekund umiera jedno dziecko na świecie z powodu chorób, którym można zapobiegać za pomocą szczepionek"

Od kilku lat narasta w różnych środowiskach w świecie i w Polsce szkodliwa dla zdrowia człowieka oraz niebezpieczna dla zdrowia publicznego anty-szczepionkowa propaganda. Należy podkreślić, że przez większą część historii gatunku Homo sapiens, patogeny wirusowe i bakteryjne (np. odra, dżuma, polio, cholera, dur brzuszny, szkarlatyna, błonica) nie były dla ludzi szkodliwe. Nie mniej jednak niektóre patogeny (np. gruźlica, ospa wietrzna, półpasiec) rozwinęły strategię latencji, która pozwalała im przetrwać w komórkach cale dekady. Wraz z rozwojem miast, handlu i wymiany towarowej zostały stworzone idealne warunki dla wybuchu różnych epidemii i pandemii odzwierzęcych chorób wirusowych i bakteryjnych. W czasie wykładu przywołane zostaną historyczne dane na temat zabójczych epidemii i pandemii w Starożytności i w czasach Średniowiecza. Dopiero odkrycia w XX i XXI wieku skutecznych szczepionek i wprowadzenie obowiązku powszechnych szczepień zahamowało proces wyniszczania ludzkości przez patogeny. Nie mniej jednak należy wciąż mieć na uwadze i badać naukowo problem interakcji pomiędzy bakteriami patogennymi, wirusami i ich odpornością na coraz więcej czynników środowiskowych oraz antybiotyków, tak by wprowadzane i wciąż udoskonalane szczepionki były jak najbardziej skuteczne. Dzisiaj coraz więcej słyszy się przecież o zdarzeniach wywołanych przez bakterie całkowicie oporne na leczenie, które modyfikują swój genom tak by nie poddawać się np. antybiotykoterapii.

W trakcie wykładu podjęta zostanie też próba znalezienia odpowiedzi na pytanie o źródła społecznych niepokojów, dotyczących szczepionek i szczepień, w tym nowoczesnych, skutecznych szczepionek rekombinowanych. Ponadto, ku przestrodze anty- szczepionkowym „oszołomom" przedstawione zostaną wybrane przykłady skutków zaprzestania szczepień ochronnych lub odmowy przez rodziców szczepienia dzieci. Należy bowiem niektórym, bardzo aktywnym „działaczom" anty-szczepionkowej propagandy przypomnieć, że straszliwie groźne patogeny odzwierzęce są wciąż obecne w środowiskach naturalnych (np. HIV, ptasia i świńska grypa, ebola, gruźlica), a także fakt, że zasoby straszliwych patogenów wirusowych i bakteryjnych wciąż istnieją w chronionych kolekcjach kilku Państw. Miejmy nadzieję, że po trudnych, historycznych doświadczeniach ludzkości - te straszliwe patogeny nigdy nie zostaną użyte jako broń biologiczna.

Vaccines and vaccinations - one of the most important pro-health activities

Motto:"WHO data shows that every 20 seconds one child dies on our planet of vaccine preventable diseases"

For the last few years among many groups there can be observed an increase in anti-vaccine propaganda both in Poland and worldwide, which poses a great threat to public health. It should be pointed that throughout the majority of history of Homo sapiens both viral and bacterial pathogens such as smallpox, measles, cholera, bubonic plague, typhoid, polio, scarlet fever and diphtheria were not harmful to humans. Nevertheless, some pathogens (e.g. tuberculosis, smallpox and shingles) developed strategies of latency which allowed them to survive in their cells for many decades. With the cities development, trade and exchange of goods have created ideal conditions for the outbreak of various epidemics and pandemics of zoonotic viral and bacterial diseases. During the lecture the historical data on the devastating lethal epidemics and pandemics in Antiquity and in the Middle Ages will be presented. The discoveries in the 20th and 21st century of effective vaccines and the introduction of the obligation of universal vaccination stopped the process of destroying humanity by pathogens. Nevertheless, one should still keep in mind and scientifically investigate the problem of interaction between pathogenic bacteria, viruses and their resistance to more and more environmental factors and antibiotics, so that the introduced and constantly improved vaccines will be the most effective. Today, more and more we hear about events caused by bacteria completely resistant to treatment, which modify its genome so as not to give up, e.g. antibiotic therapy.

During the lecture will be made an attempt to find an answer to the question about the sources of social unrest related to vaccines and immunization, including modern, effective recombinant vaccines. In addition, a few examples of the effects of cessation of vaccinations or refusals by parents to vaccinate children will be presented as a warning against "vaccination". For some very active "activists" of anti-vaccine propaganda, it should be remembered that terrible zoonotic pathogens are still present in natural environments (e.g. HIV, avian and swine flu, Ebola, tuberculosis), as well as the fact that the resources of terrible viral pathogens and bacterial remains still in the protected collections of several States. Let us only hope that humanity has learned its lesson from the turbulent history of pandemics and epidemics and that these lethal pathogens will never be used as a biological weapon.

Podzielone genomy bakteryjne: genomika strukturalna i funkcjonalna *Rhizobium*

Andrzej Mazur

Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-031 Lublin, mazur@hektor.umcs.lublin.pl

Około 60% poznanych dotąd genomów bakteryjnych składa się z pojedynczego chromosomu, jednakże pozostałe genomy mają architekturę wieloczęściową i mogą zawierać od jednego do trzech chromosomów, którym dodatkowo mogą towarzyszyć plazmidy o różnych rozmiarach i liczbie. Ponadto 10% genomów bakterii oprócz głównego chromosomu, zawiera bardzo duże i niezbędne replikony pozachromosomalne. Duże wieloczęściowe genomy są typowe dla gatunków bakterii, które zasiedlają tzw. otwarte środowiska, np. glebę. Wieloreplikonowe genomy są również charakterystycznie dla mikroorganizmów, które wchodzą w interakcje z gospodarzem. Genomy takie są powszechne u wielu ważnych dla człowieka mikroorganizmów z rodzajów *Agrobacterium* i *Brucella*, które są patogenami odpowiednio roślin i zwierząt oraz z rodzaju *Rhizobium*, będących symbiontami roślin bobowatych. Wyniki badań z zakresu genomiki strukturalnej i funkcjonalnej rizobiów wskazują, że replikony pozoachromosomalne, często zawierające niezbędne geny, w istotny sposób kształtują potencjał metaboliczny i adaptacyjny rizobiów, a przez to ich konkurencyjność w heterogennym środowisku. Wieloczęściowy genom warunkuje szybszą replikację i sprzyja rearanżacjom strukturalnym, które mogą prowadzić do pojawienia się kolejnych korzystnych cech o charakterze adaptacyjnym. Analiza genomów rizobiów dostarcza także cennych informacji dotyczących mechanizmów ewolucyjnych, które mogły doprowadzić do powstawania genomów wieloreplikonowych i znacząco zmienia pogląd na temat tego, że cała istotna informacja genetyczna bakterii musi być ulokowana w chromosomie.

The divided bacterial genomes: structural and functional genomics of Rhizobium

About 60% of bacterial genomes contain single chromosome, however the others have complex, multipartite genome architecture with several chromosomes which may be further accompanied by plasmids of various number and size. Moreover in 10% of bacterial genomes large and indispensable extrachromosomal replicons have been found apart from the main chromosome. Large, multipartite genomes are typical for bacteria occupying the so-called open environments e.g. soils. Such genome organization is also common in bacteria of high importance for human, from genera of *Agrobacterium* and *Brucella*, which are pathogens of plants and animals respectively, as well as of *Rhizobium*, constituting symbionts of legume plants. The results of structural and functional genomics of rhizobia demonstrated that extrachromosomal replicons, often carrying essential genes, significantly shape the metabolic and adaptive potential of rhizobia, and thus their competitiveness in a heterogeneous environment. Multipartite genome allows for faster replication and facilitates structural rearrangements that may lead to the appearance of further adaptive traits. The analysis of rhizobial genomes also provides valuable data on the evolutionary mechanisms that could be responsible for the formation of multipartite genomes and significantly changes the view that all essential genetic information of the bacteria must be stored in the chromosome.

Bioróżnorodność wspólnot mikroorganizmów fermentacji wodorowych i metanowych

Anna Sikora

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Zakład Biologii Molekularnej, ul. Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa

Beztlenowy rozkład materii organicznej, którego końcowymi produktami są metan i dwutlenek węgla, jest procesem powszechnie zachodzącym w środowiskach beztlenowych, bogatych w związki organiczne, gdzie stężenie innych akceptorów elektronów jak azotany, związki Fe(III) i Mn (IV) oraz siarczany jest niskie. Beztlenowy rozkład związków organicznych do metanu i dwutlenku węgla wymaga aktywności metabolicznej wielu grup mikroorganizmów i współzależności między nimi. Wyróżnia się 4 etapy tego procesu: hydroliza wielkocząsteczkowych związków organicznych do monomerów i dimerów; acydogeneza, czyli fermentacje kwaśne w wyniku których powstają wodór, dwutlenek węgla, krótkołańcuchowe kwasy organiczne i etanol; octanogeneza, podczas której octanogenne bakterie syntroficzne utleniają produkty fazy kwaśnej do kwasu octowego, dwutlenku węgla i wodoru; metanogeneza. Dwa ostatnie etapy (octanogeneza i metanogeneza) połączone są ze sobą w nierozerwalny sposób i wymagają syntroficznych układów pomiędzy bakteriami octanogennymi i metanogenami. Nasza wiedza na temat beztlenowego rozkładu materii organicznej jest skąpa, gdyż pochodzi głównie z badania aktywności metabolicznej mikroorganizmów w postaci czystych kultur. Istnieje konieczność zastosowania nowych dziedzin takich jak podejścia meta-omiczne do dogłębnego poznania poszczególnych etapów beztlenowego rozkładu materii organicznej. Prezentacja skupia się na pokazaniu wybranych współzależności pomiędzy mikroorganizmami na etapie kwasogenezy i acetogenezy.

Sponsorowane przez Narodowe Centrum Badań I Rozwoju, BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016

Hydrogen- and methane-yielding fermentations: biodiversity of microbial communities

Anaerobic decomposition of biomass to carbon dioxide and methane occurs in anoxic environments with a low redox potential, i.e. where concentrations of other electron acceptors such as nitrate, Mn (IV), Fe(III) or sulphate are low. The general scheme of anaerobic digestion is well known. It is a complex process promoted by the interaction of many groups of microorganisms and has four major steps. The first is hydrolysis of complex organic polymers to monomers by fermentative bacteria. The second step is acidogenesis that results in the formation of hydrogen and carbon dioxide as well as non-gaseous fermentation products. In the third step, known as acetogenesis, these non-gaseous products are further oxidized to hydrogen, carbon dioxide and acetate, mainly by syntrophic degradation processes. The fourth step is methanogenesis. The final two steps, acetogenesis and methanogenesis, are closely linked and involve syntrophic associations between acetogenic bacteria and methanogens. The recent increase in the number of culture-independent molecular biology techniques and bioinformatic tools for exploring microbial communities has helped to develop the field of meta-omics. The data generated by these novel methodologies have provided significant insights into the structure and function of microbial communities in both natural environments and man-made systems. The presentation focuses on the selected issues and interactions between microorganisms on acidogenic and acetogenic steps of anaerobic digestion.

Supported by The National Centre for Research and Development, BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016

REFERATY
Metagenomika Aplikacyjna

MAISEN – internetowy system do adnotacji (meta)genomów *de novo*

Mikołaj Dziurzyński, Przemysław Decewicz, Łukasz Dziewit

Zakład Genetyki Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Pojawienie się technologii umożliwiających wysokoprzepustowe sekwencjonowanie DNA umożliwiło odczytywanie ogromnej ilości danych. Co więcej, ilość odczytanych sekwencji rośnie wykładniczo i nie przewiduje się aby trend ten uległ zmianie w najbliższej przyszłości. Należy jednak pamiętać, że sekwencjonowanie jest tylko pierwszym etapem procesu, którego ostatecznym celem jest poprawne przypisanie funkcji wszystkim regionom kodującym. Obecnie, adnotacja funkcjonalna opiera się na porównywaniu nowo odczytanych odcinków DNA z tymi o znanej już funkcji. Biorąc pod uwagę olbrzymią ilość danych, postanowiono zautomatyzować ten proces. Niestety, adnotacja automatyczna sprawdza się tylko i wyłącznie do powierzchownego screeningu analizowanych sekwencji. W celu uzyskania adnotacji o wysokiej jakości, wciąż niezbędna jest adnotacja manualna w trakcie której naukowcy muszą korzystać z wielu różnych programów i baz danych, co sprawia że cały proces jest bardzo żmudny i czasochłonny. Wychodząc naprzeciw potrzebie dokładnej adnotacji dużej ilości danych, postanowiliśmy stworzyć nowe narzędzie bioinformatyczne. MAISEN to internetowy system do adnotacji (meta)genomów *de novo*, którego głównym celem jest połączenie zalet adnotacji automatycznej z manualną. MAISEN dostępny jest pod adresem: maisen.ddg.biol.uw.edu.pl.

MAISEN – web-based system for *de novo* annotation of (meta)genomes

Development of NGS technologies has made massive sequencing possible which in turn generated enormous amount of data. The amount of data is growing exponentially, and it is not going to slow down anytime soon. However, it has to be noted that sequencing is only the first step - the ultimate goal is to correctly assign proper function to all newly found coding regions. Nowadays, functions are assigned to genes and their products based on their homology to other, already know sequences. Given the amount of data, scientists developed various automatic annotation systems, that greatly decrease the amount of time needed for annotation. Unfortunately, automatic annotation systems are error-prone, and only suitable for initial analysis. In order to correctly annotate a given gene, each scientist must employ a variety of different programs and databases which makes manual annotation a tedious and time-consuming task. In our work we decided to tackle this problem by combining the advantages of both automatic and manual annotation systems. We introduce MAISEN - a web-based annotation system that aims to combine output from multiple programs in one place in order to boost the efficiency of manual, *de novo* (meta)genome annotation. MAISEN is available at maisen.ddg.biol.uw.edu.pl.

Wpływ bakterii z rodzaju *Bacillus* sp. na poprawę właściwości gleb oraz stymulację wzrostu i rozwoju roślin

Radosław Wilk[1], Katarzyna Szychowska[2], Agnieszka Karpińska [2], Wojciech Białas[3], Agnieszka Wita[3], Katarzyna Czaczyk[3]

[1] Politechnika Wrocławska, Zakład Zaawansowanych Technologii Materiałowych, ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-372 Wrocław, tel. (0-71) 3202486; e-mail: radoslaw.wilk@pwr.edu.pl
[2] INTERMAG Sp. z o.o. al. 1000-lecia 15g, 32-300 Olkusz, e-mail: intermag@intermag.pl
[3] Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, ul. Wojska Polskiego 48 , 60-627 Poznań, e-mail: kbimz@up.poznan.pl

Celem niniejszych badań było opracowanie biopreparatu na bazie bakterii z rodzaju *Bacillus*, który będzie pozytywnie wpływał m.in na przyspieszenie dekompozycji resztek pożniwnych, poprawę właściwości gleb oraz w konsekwencji zwiększał plonowanie roślin.

W badaniach przeprowadzono selekcję mikroorganizmów z użyciem m.in. zmodyfikowanej pożywki wg. Gupta i wsp. (Int. J.Microb., 2012, Art. ID 578925). W celu określenia aktywności celulolitycznej wykorzystano metodę powierzchniową oraz studzienkową przy użyciu płynu Lugola i czerwieni Kongo (badania screeningowe na szalkach Petriego) jak i metodę wykorzystującą kwas 3,5-dinitrosalicylowy (DNS). W celu określenia zdolności do solubilizacji nierozpuszczanych związków fosforu, wykorzystano metodę posiewów powierzchniowych na pożywce Pikovskaya. Identyfikację genetyczną wybranych szczepów bakterii, przeprowadzono za pomocą analizy 16S rRNA.

Podczas realizacji prac badawczo-rozwojowych sprawdzono aktywność ponad 200-stu szczepów bakterii, z których za pomocą doświadczeń laboratoryjnych i testów na roślinach wybrano 2 szczepy o najwyższej aktywności celulolitycznej, najlepszych zdolnościach do solubilizacji nierozpuszczalnego zw. fosforu oraz do promowania wzrostu i rozwoju roślin (*Bacillus subtilis szczep nr. B00105* oraz *Bacillus licheniformis szczep nr. B00106*). Badania biologiczne nowej formulacji preparatu wykonane zostały m.in. w Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach oraz Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach. Wyniki wskazują na pozytywny wpływ preparatu zawierającego wyselekcjonowane szczepy bakterii z rodzaju *Bacillus* na poprawę właściwości gleby oraz wzrost i rozwój roślin.

Influence of *Bacillus* sp. for soil fertility enhancement and stimulation of plant growth and development.

The aim of this study was to develop the bio product based on *Bacillus* spp. bacteria isolated from natural environment, which have a beneficial effect on accelerating of crop residue decomposition, improvement of soil properties, resulting in higher yield .

Micoroorganisms used in studies were selected from over 200 bacterial strains with the use of modified medium according to Gupta et al. (Int. J.Microb., 2012, Art. ID 578925). Cellulolytic properties of selected strains were determined i.a. using 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS). The ability to solubilize insoluble phosphorus forms was estimated using Pikovskay medium. Genetic identification of selected strains was performed by analyzing 16S rRNA. Two microorganisms (*Bacillus subtilis B00105* and *Bacillus licheniformis B00106*) having the highest cellulolytic activities, the best ability to solubilize insoluble phosphorus form and promoting plant growth and development were selected to create the product. The studies were carried out by Institute of Soil Science and Plant Cultivation in Puławy and Institute of Horticulture in Skierniewice. The results proved beneficial effect of formulation on improvement soil fertility and plant growth and development.

Rola pożytecznych mikroorganizmów w uprawie roślin ogrodniczych

Lidia Sas Paszt, Paweł Trzciński, Anna Lisek, Edyta Derkowska, Beata Sumorok, Sławomir Głuszek, Mateusz Frąc, Michał Przybył, Krzysztof Weszczak

Instytut Ogrodnictwa
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

W Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach powstał SYMBIO BANK - pierwszy w Polsce bank symbiotycznych grzybów mikoryzowych i pożytecznych bakterii pozyskanych z rizosfery roślin ogrodniczych, rosnących w różnych glebach i warunkach klimatycznych Polski. Najbardziej wartościowe szczepy i gatunki mikroorganizmów są komponentami nowo opracowanych preparatów biologicznych: biostymulatorów, kompostów oraz konsorcjów bakteryjno-mikoryzowych.

Celem pracy była ocena wpływu zastosowanych bioproduktów mikrobiologicznych na wzrost i plonowanie wybranych gatunków roślin ogrodniczych. Badania wykazały wysoką skuteczność pożytecznych mikroorganizmów w stymulacji wzrostu wegetatywnego i plonowania roślin ogrodniczych. Stosowanie nawozów NPK wpłynęło negatywnie na występowanie i aktywność pożytecznych mikroorganizmów glebowych. Wyniki wykazały pozytywny wpływ ekologicznej metody uprawy roślin ogrodniczych z zastosowaniem pożytecznych mikroorganizmów na zwiększenie populacji pożytecznych grup mikroorganizmów w rizosferze tych roślin, w tym na wzrost populacji diazotrofów i populacji bakterii tworzących przetrwalniki. Aplikacja pożytecznych mikroorganizmów w uprawach ekologicznych wpłynęła na zwiększenie plonowania badanych gatunków warzyw i owoców oraz na lepsze właściwości przetwórcze i przechowalnicze plonów, w porównaniu do plonów produkcji integrowanej. Powszechne stosowanie innowacyjnych bioproduktów w ekologicznej uprawie roślin ogrodniczych poprawi jakość plonów i żyzność gleby.

The role of beneficial microorganism in the cultivation of horticultural plants

The Research Institute of Horticulture in Skierniewice has established SYMBIO BANK – Poland's first bank of symbiotic mycorrhizal fungi and beneficial bacteria obtained from the rhizosphere of horticultural plants growing in various soils and climatic conditions of Poland. The most valuable strains and species of microorganisms are components of newly developed biological preparations:biostimulants, composts, and bacterial and mycorrhizal consortia.

The aim of the study was to assess the impact of applied microbial bioproducts on the growth and yielding of selected species of horticultural plants. The study demonstrated high effectiveness of beneficial microorganisms in the stimulation of vegetative growth and yielding of horticultural plants. The use of NPK fertilizers negatively affected the occurrence and activity of beneficial soil microorganisms. The results showed a positive effect of the organic method of growing horticultural crops using beneficial microorganisms on increasing the populations of beneficial groups of microorganisms in the rhizosphere of these plants, including the populations of diazotrophs and spore-forming bacteria. The application of beneficial microorganisms in organic crops increased the yielding of the tested fruit and vegetable species and resulted in better processing and storage properties of crops, in comparison with crops from integrated production. Widespread use of innovative bioproducts in the organic cultivation of horticultural plants will improve the quality of crops and soil fertility.

Potencjał aplikacyjny lipazy halofilnej bakterii *Nocardiopsis prasina*

Paweł Wierzchowski[1], Urszula Jankiewicz[1], Joanna Grubich[2], Maria Swiontek Brzezinska[2], Agnieszka Kalwasińska[2], Aleksandra Grabowska[1].

[1]Katedra Biochemii, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
[2]Zakład Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska , Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Lipazy (EC 3.1.1.3) inaczej acylohydrolazy triacyloglicerolu są enzymami hydrolitycznymi o istotnym potencjale aplikacyjnym szczególnie w przemyśle spożywczym i chemicznym oraz o dużym znaczeniu fizjologicznym. Enzymy te katalizują hydrolizę triglicerydów do glicerolu i wolnych kwasów tłuszczowych. Bakteryjne enzymy lipolityczne zostały sklasyfikowane w 8 rodzinach, a największa rodzina została dodatkowo podzielona na 6 podrodzin przez (Arpigny' i Jaeger 1999). Klasyfikacja ta oparta jest się na konserwatywnych motywach sekwencji i biologicznych właściwościach enzymów. Wśród hydrolaz lipolitycznych wyróżniamy esterazy i lipazy (ang. true lipases). Ze względu na duża stabilność, wysoką stereospecyficznośc oraz aktywność katalityczną w skrajnych warunkach reakcji szczególne zainteresowanie budzą enzymy lipolityczne syntetyzowane przez mikroorganizmy ekstremofilne. Dlatego obiektem naszych badań była zewnątrzkomórkowa lipaza syntetyzowana przez alkalofilną i halofilną bakterię *Nocardiopsis prasina.* Do oznaczenia aktywności enzymatycznej lipaz posługiwano się palmityniano 4-nitrofenolem (pNPP) jako substratem. Optymalne warunki działania tego enzymu ustalono na pH 10,0, 55°C oraz 3 M stężenie NaCl. Aktywność enzymu była hamowana w obecności PMSF (fluorku fenylometylosulfonylu), inhibitora enzymów serynowych. Lipaza syntetyzowana przez *N. prasina* wydaje się być enzymem o dużym zastosowaniu praktycznym, dlatego konieczne są dalsze badania nad tym enzymem.

Potential applications of the lipase from halophilic bacteria *Nocardiopsis prasina*

Lipases (EC 3.1.1.3), triacylglycerol acylhydrolases are hydrolytic enzymes with a significant application potential especially in the food and chemical industry and of high physiological importance. These enzymes catalyze the hydrolysis of triglycerides to glycerol and free fatty acids. Bacterial lipolytic enzymes were classified in 8 families, and the largest family was further divided into 6 subfamilies. This classification is based on conserved sequence motifs and the biological properties of enzymes. Among lipolytic hydrolases, we distinguish between esterases and lipases (true lipases). Due to high stability, high stereospecificity and catalytic activity in extreme reaction conditions, the lipolytic enzymes synthesized by extremophilic microorganisms are of particular interest. Therefore, the object of our research was the extracellular lipase synthesized by the halophilc and alkalophilic bacteria *Nocardiopsis prasina*. To determine the enzymatic activity of lipases, 4-nitrophenol palmitate (pNPP) was used as a substrate. Optimal conditions for this enzyme were set at pH 10.0 and 55°C and 3 M NaCl concentration. The enzyme activity was inhibited in the presence of PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride), inhibitor of serine enzymes. The lipase synthesized by *N. prasina* appears to be an enzyme with high practical application, therefore further research is needed on this enzym.

Systemy Biolog – od identyfikacji do metabolicznego fenotypowania mikroorganizmów

Dorota Nowak-Ziatyk

BioMaxima S. A., ul. Vetterów 5, 20-277 Lublin, e-mail: d.nowak@biomaxima.com

Nawiązując do tematyki zastosowania nowych metod w diagnostyce mikrobiologicznej, pragniemy przedstawić wprowadzoną przez amerykańską firmę BIOLOG unikalną technologię, umożliwiającą **szybką identyfikację szerokiego spektrum gatunków bakterii i grzybów**.

Opracowane przez firmę BIOLOG, wielopłaszczyznowe systemy identyfikacji mikroorganizmów, oparte są na analizie ich metabolizmu w odniesieniu do wszystkich głównych grup związków biochemicznych, umieszczonych w odpowiednich studzienkach 96-dołkowych płytek. Identyfikowany mikroorganizm, metabolizując specyficzne dla niego np. źródła węgla, tworzy niepowtarzalny wzór, tzw. „odcisk palca", który można odczytać zarówno przy użyciu systemu automatycznego (**OmniLog ID System**), półautomatycznego (**MicroStation ID System**), jak również manualnie (**MicroLog ID System**). W ofercie firmy BIOLOG dostępnych jest 5 baz danych, dzięki którym **można zidentyfikować ponad 2600 gatunków bakterii, drożdży oraz grzybów strzępkowych**, w czasie już od 4 godzin i przy minimalnym nakładzie pracy (identyfikacja bakterii tlenowych przy użyciu płytki GEN III nie wymaga barwienia Grama, żadnych wstępnych lub dodatkowych testów). Co więcej, przy wykorzystaniu odpowiedniego oprogramowania, możliwe jest tworzenie własnych baz danych, w których można umieszczać identyfikowane przez nas mikroorganizmy wraz z ich charakterystyką. Unikalna technologia BIOLOG zapewnia największą dokładność identyfikacji na poziomie molekularnym, bez konieczności stosowania skomplikowanych i kosztownych metod sekwencjonowania genetycznego.

W ofercie firmy BIOLOG dostępne są również **mikropłytki EcoPlate**, wykorzystywane do tworzenia profilu poziomu fizjologicznego oraz profilu metabolicznego populacji mikroorganizmów występujących w różnych środowiskach (np. w glebie, wodzie, ściekach, odpadach przemysłowych, itp.). Co więcej, firma BIOLOG dysponuje unikalną technologią mikromacierzy fenotypowych PM, które obok mikromacierzy DNA i proteomiki, są jedną z trzech kluczowych technik analizy ekspresji genów. Podobnie do mikromacierzy DNA i proteomiki, umożliwiających jednoczesną analizę tysięcy genów lub białek, **mikromacierze fenotypowe PM pozwalają na ilościową analizę tysięcy fenotypów komórek mikroorganizmów w trakcie jednego badania**. Przy ich wykorzystaniu otrzymujemy niezbędne informacje na poziomie komórkowym, które mogą być wykorzystane między innymi do:

- identyfikacji funkcji genów;
- charakterystyki mutantów i mutacji;
- analizy efektów zmian genetycznych;
- optymalizacji warunków hodowli mikroorganizmów;
- kontroli jakości i walidacji bioprocesów;
- poszukiwania nowych celów terapeutycznych;
- badań toksykologicznych;
- badań nad wpływem substancji chemicznych i czynników środowiskowych na mikroorganizy.

Płytki PM są wygodne w użyciu, a procedura wykonania badania jest szybka i nieskomplikowana. Wyniki można odczytać przy użyciu **standardowego czytnika mikropłytek**, jak również wykorzystując w tym celu oferowany przez firmę BIOLOG system automatyczny **OmniLog Combo ID System**.

REFERATY

Metagenomika środowisk ekstremalnych

Molekularna identyfikacja wirusa Y ziemniaka (PVY) i jego stężenie w różnych organach ziemniaka

Edyta Deja-Sikora[1,2], Anita Kowalczyk[1,2], Christel Baum[4], Louis Mercy[5], Marcin Gołębiewski[2,3], Jarosław Tyburski[2,3], Katarzyna Hrynkiewicz[1,2]

[1]Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii I OchronyŚrodowiska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
[2]Interdyscyplinarne Centrum Nowoczesnych Technologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
[3]Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
[4]Soil Science, Faculty of Agricultural and Environmental Science, University of Rostock, Germany
[5]INOQ GmbH, Solkau 2, 29465 Schnega

W ostatnich dekadach światowe uprawy ziemniaka są atakowane przez liczne fitopatogeny. Jednym z najgroźniejszych szkodników tej rośliny jest wirus Y ziemniaka (PVY, Potato Virus Y, rodzaj Potyvirus). Wirus przenoszony jest głównie przez mszyce (np. mszycę brzoskwiniową, Mysus persicae). PVY jest szeroko rozpowszechniony w różnych regionach świata, w tym również w Polsce, gdzie infekuje ok. 40% upraw ziemniaka i zmniejsza plonowanie bulw od 14 do nawet 88%. Na świecie zidentyfikowano dotychczas kilka podstawowych szczepów PVY (tj. PVYO, PVYC i PVYN) oraz ich rekombinantów (np. PVYNTN i PVYN-Wi). W Polsce najliczniejszą grupę stanowią izolaty PVYN-Wi. W wyniku przeprowadzonej analizy molekularnej typu multiplex PCR oraz sekwencjonowania fragmentów genomu, zidentyfikowaliśmy zrekombinowany szczep PVYN:O występujący w trzech odmianach ziemniaka – Pirol, Delikat i Schubert utrzymywanych w hodowli in vitro. Stosując technikę ELISA oznaczyliśmy ilościowo zawartość tego wirusa w liściach, łodygach i korzeniach roślin zainfekowanych.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (NCN, Polska) w ramach projektu OPUS 2016/23/B/NZ9/03417

Molecular identification of Potato Virus Y (PVY) and virus concentration in different organs of potato plant

In last decades world potato production areas are severely affected by numerous pests causing significant economic losses. Potato Virus Y (PVY, genus Potyvirus) is one of the most important pathogens of potato and a major problem in the profitable production of seed potatoes. The virus is spread mainly by aphid vectors (e.g. Mysus persicae). PVY is widely distributed in agricultural regions worldwide. In Poland, PVY infects about 40% of potato crops and reduce the tuber yield by 14 up to 88%. The symptoms of PVY infection are variable and they are affected by the viral strain, host plant cultivar and environmental conditions. For these reasons, only molecular analyses can provide reliable detection of the pathogen. Thus far, three basic strains of PVY (i.e. PVYO, PVYC, PVYN) and few recombinants (e.g. PVYNTN and PVYN-Wi) were recognized. In Poland, PVYN-Wi isolates are most frequently found. Using the multiplex PCR analysis and sequencing of virus genome fragments, we identified recombinant necrotic PVYN:O strain infecting three potato cultivars - Pirol, Delikat and Schubert grown in vitro. Using the ELISA test with anti-PVY antibodies we assessed the concentration of viral particles in leaves, stems and roots of PVY-infected potato plants.

This investigation was financially supported by the National Science Centre (NCN, Poland) OPUS 2016/23/B/NZ9/03417.

Rola mikrobiomu w kształtowaniu przystosowań do zasiedlania owocników grzybów nadrzewnych przez wybrane gatunki owadów saproksylicznych

Agnieszka Kaczmarczyk[1], Grzegorz Wagner[2], Halina Kucharczyk[2], Marek Kucharczyk[3], Jerzy Sell[1], Sylwia Zielińska[4,5]

[1]Katedra Genetyki i Biosystematyki, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański , [2]Zakład Zoologii, Instytut Biologii i Biochemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, [3]Zakład Ochrony Przyrody, Instytut Biologii i Biochemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie , [4]Katedra Genetyki Molekularnej Bakterii, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, [5]Phage Consultants, Gdańsk

Owady stanowią jedną z najbardziej złożonych i różnorodnych grup organizmów zasiedlających Ziemię. Ich szkielet zewnętrzny, przewód pokarmowy, hemocel, a nawet komórki ciała są kolonizowane przez różnorodne mikroorganizmy, które nierzadko pełnią istotną rolę w kluczowych procesach fizjologicznych gospodarza. Co więcej, owady bywają często nosicielami bakteryjnych symbiontów wewnątrzkomórkowych, które mogą wpływać na proces reprodukcji. Z uwagi na wysoką bioróżnorodność zarówno owadów, jak i mikroorganizmów oraz mnogość relacji gospodarz-mikrobiom, poznanie społeczności mikroorganizmów związanych z owadami staje się niezwykle interesujące.

W prezentowanych projektach określono udział głównych grup mikroorganizmów w mikrobiomie związanym z owadami saproksylicznymi zasiedlającymi owocniki grzybów nadrzewnych – *Fomes fomentarius* i *Stereum hirsutum*. Badaniami objęto wybrane stadia rozwojowe przedstawicieli rzędów Thysanoptera (*Hoplothrips carpathicus* i *H. pedicularius*) oraz Coleoptera (*Bolitophagus reticulatus*). Analizy prowadzono z wykorzystaniem wysokoprzepustowego sekwencjonowania fragmentu genu 16S rRNA techniką NGS na platformie Illumina. Otrzymane dane analizowano na różnych poziomach taksomonicznych. Stwierdzono, że *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* i *Firmicutes* są dominującymi typami bakterii we wszystkich badanych próbach. U wszystkich analizowanych gatunkach owadów stwierdzono obecność endosymbionta *Wolbachia* z różnym udziałem procentowym w próbach. Zidentyfikowano również funkcje i szlaki metaboliczne, w które zaangażowane są mikroorganizmy związane z badanymi owadami.

The role of the microbiome in shaping the adaptation to polypore fruiting bodies colonization by selected saproxylic insect species

Insects are one of the most complex and diverse groups of organisms inhabiting the Earth. Their exoskeleton, gut, hemocoel, and even body cells are colonized by a variety of microorganisms that often play an important role in the host's key physiological processes. What's more, insects are often carriers of bacterial intracellular symbionts that can affect reproduction. Due to the high biodiversity of both insects and microorganisms as well as the multitude of host-microbiome relationships, studies on microbial communities associated with insects becomes extremely interesting.

In studies presented here, we determined the relative abundance of major groups of microorganisms associated with saproxylic insects inhabiting fruiting bodies of polypore mushrooms - *Fomes fomentarius* and *Stereum hirsutum*. Microbiome of selected developmental stages of Thysanoptera (*Hoplothrips carpathicus* and *H. pedicularius*) and Coleoptera (*Bolitophagus reticulatus*) representatives were analysed. The analyzes were carried out using high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene fragment by the NGS technique on the Illumina platform. Obtained data was analyzed at various taxonomic levels. *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* and *Firmicutes* were found to be the most abundant bacterial phyla in all samples. The presence of *Wolbachia* endosymbiont was found in all host-species studied. Functions and metabolic pathways in which microorganisms associated with the insects are involved have also been identified.

Metagenomy niezwykłych środowisk: solanki ciechocińskie

Agnieszka Kalwasińska[1], Edyta Deja-Sikora[2,3], Aleksandra Burkowska-But[1], Attila Szabó[4], Tamás Felföldi[4], Przemysław Kosobucki[5], Arkadiusz Krawiec[6], Maciej Walczak[1], Maria Swiontek Brzezinska[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu; [2]Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu; [3]Interdyscyplinarne Centrum Nowoczesnych Technologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu; [4]Department of Microbiology, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary; [5]Zakład Analityki Żywności i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy; [6]Katedra Geologii i Hydrogeologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Solanki są naturalnym bogactwem leczniczym uzdrowiska Ciechocinek. Podlegają eksploatacji i znajdują zastosowanie w lecznictwie oraz do produkcji soli spożywczej. Zatężanie solanki odbywa się w systemie tężni, czyli drewnianych konstrukcji wypełnionych gałązkami tarniny, unikalnych pod względem budowy i funkcji w skali światowej.

Celem naszych badań było określenie bioróżnorodności zbiorowisk mikroorganizmów (bakterii i archeonów) bytujących w solankach tężniowych Ciechocinka oraz wpływu zasolenia na występujące w solankach mikroorganizmy.

Z przeprowadzonych badań wynika, że liczebność mikroorganizmów w badanych wodach była rzędu 10^7 komórek ml^{-1}, a liczebność bakterii hodowalnych 10^4 - 10^5 jtk ml^{-1}. Wzrastające zasolenie pozytywnie korelowało z liczebnością mikroorganizmów oraz z ich różnorodnością na poziomie rodzajowym. Zbiorowisko archeonowe było zdominowane przez przedstawicieli typu Euryarchaeota i klasę Halobacteria. Zbiorowisko bakterii było bardziej zróżnicowane. Najliczniej występowały sekwencje należące do Proteobacteria i Bacteroidetes, przy czym udział Bacteroidetes wzrastał ze wzrostem zasolenia. Przedstawiciele rodzajów *Idiomarina*, *Psychroflexus*, *Roseovarius i Marinobacter* wykazywały tolerancję na zmiany zasolenia. Wysoki odsetek niesklasyfikowanych na poziomie rodzaju sekwencji bakteryjnych (do 42%) wskazuje na obecność w tym środowisku nowych, nie zidentyfikowanych jeszcze mikroorganizmów.

Metagenomes of unusual environments: brines from Ciechocinek

The aim of our study was to assess the diversity of microorganisms (bacteria and archaea) present in brines at the system of graduation towers in Ciechocinek and to reveal the influence of salinity on microbial community composition.

The microbial cell density was at the order of magnitude of 10^7 cells ml^{-1} and the viable cells counts were at the order of magnitude of 10^4 - 10^5 CFU ml^{-1}. Increasing salt concentration was positively correlated with both the cell counts, and species-level diversity of bacterial and archaeal communities. The archaeal community was mostly constituted by members of the phylum Euryarchaeota, class Halobacteria. The bacterial community was more diverse, with representatives of the phyla Proteobacteria and Bacteroidetes as the most abundant. The proportion of Bacteroidetes increased significantly in the more concentrated samples. Representatives of the genera Idiomarina, Psychroflexus, Roseovarius, and Marinobacter appeared to be tolerant to changes of salinity. The high proportion of novel bacterial reads (up to 42%) in the 16S rRNA gene sequences indicated that potentially new bacterial taxa inhabit this unique environment.

Identyfikacja i charakterystyka bakterii endofitycznych zasiedlających roślinę pustynną *Cyperus* sp. z możliwością ich wykorzystania w rolnictwie

Anna Lisek, Paweł Trzciński, Lidia Sas Paszt

Instytut Ogrodnictwa
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

Na obszarze Polski coraz częściej występują susze o negatywnych skutkach dla roślin uprawnych. Zastosowanie pożytecznych mikroorganizmów może mieć pozytywny wpływ na wzrost i plonowanie roślin uprawnych poprzez ograniczenie negatywnych skutków stresu suszy i wysokich temperatur. Opracowanie konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów przydatnych do zastosowań w rolnictwie wymaga selekcji najbardziej wartościowych szczepów mikroorganizmów, charakteryzujących się właściwościami stymulacji wzrostu i plonowania roślin oraz o działaniu ochronnym. Celem badań była identyfikacja i charakterystyka endofitów bakteryjnych pozyskanych z liści i korzeni rośliny pustynnej Cyperus sp. Łącznie pozyskano 111 izolatów bakterii endofitycznych. Stwierdzono, że bakterie te charakteryzują się syntezą kwasu indolilooctowego (11,1% izolatów), intensywną produkcją sideroforów (18,9% izolatów), dużą efektywnością udostępniania fosforu ze związków fosforu (24,4% izolatów), aktywnością chitynolityczną (4,5% izolatów) oraz wysoką tolerancją na zasolenie przy 8% stężeniu chlorku sodu w pożywce (27,7% izolatów). Identyfikacja izolatów bakterii przeprowadzona z użyciem analizy sekwencji genu 16S rRNA wykazała przynależność izolatów bakterii endofitycznych do rodzajów *Pantoea*, *Bacillus*, *Arthrobacter* oraz *Microbacterium*. Najbardziej wartościowe szczepy endofitów bakteryjnych znajdą zastosowanie jako komponenty nowoopracowanych konsorcjów mikrobiologicznych przeznaczonych dla poprawy wzrostu i plonowania roślin, w szczególności roślin uprawianych w warunkach stresu suszy.

Identification and characterization of endophytic bacteria colonizing a Cyperus sp. desert plant with the possibility of using them in agriculture

Droughts with negative effects on arable crops are increasingly common in Poland. The use of beneficial microorganisms can have a positive effect on the growth and yielding of crop plants by limiting the negative effects of drought stress and high temperatures. The development of consortia of beneficial microorganisms useful for agricultural applications requires the selection of the most valuable strains of microorganisms characterized by the properties of stimulating the growth and yielding of plants and having a protective effect. The aim of the study was the identification and characterization of bacterial endophytes obtained from the leaves and roots of a Cyperus sp. desert plant. A total of 111 isolates of endophytic bacteria were obtained. It was found that the characteristic features of these bacteria were: synthesis of indolylacetic acid (11.1% of isolates), intensive production of siderophores (18.9% of isolates), high efficiency of making phosphorus available from phosphorus compounds (24.4% of isolates), chitinolytic activity (4.5% of isolates), and high tolerance to salinity at a sodium chloride concentration of 8% in the medium (27.7% of isolates). The identification of the bacterial isolates performed by sequence analysis of the 16S rRNA gene revealed that the isolates of the endophytic bacteria belonged to the genera *Pantoea*, *Bacillus*, *Arthrobacter* and *Microbacterium*. The most valuable strains of the bacterial endophytes will find use as components of newly developed microbial consortia designed to improve the growth and yielding of plants, in particular crop plants grown under drought stress conditions.

Wpływ osmoprotektantów na przeżywalność endofitów w liofilizatach roślinnych

Sonia Szymańska[1,2], Katarzyna Hrynkiewicz[1,2], Ada Błaszczyk[1,2], Marcin Sikora[2], Jarosław Tyburski[2,3], Marcin Gołębiewski[1,3]

[1]Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń, email: hrynk@umk.pl
[2]Interdyscyplinarne Centrum Nowoczesnych Technologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń,
[3]Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń.

Biostymulacja jest technologią stosowaną w celu zwiększenia tempa wzrostu roślin uprawnych, zwłaszcza w warunkach stresu abiotycznego. Ponieważ wysokie zasolenie gleb i susza zaliczane są do czynników najczęściej wpływających na obniżenie plonów roślin, głównym celem podjętych badań było opracowanie metody umożliwiającej przygotowanie biopreparatu, opartego na mikrobiomie *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. Roślina ta będąc przodkiem buraka uprawnego, jednocześnie charakteryzuje się zwiększoną tolerancją suszy i zasolenia.
W procesie optymalizacji metody zastosowano liofilizaty korzeni *Beta vulgaris cv Huzar* i *Beta vulgaris* ssp. *maritima* z dodatkiem osmotycznie czynnych związków (ektoina i trehaloza). Założono, że (i) dodatek osmoprotektantów zapewni wyższą stabilność mikrobiomu w liofilizatach roślinnych, (ii) proces liofilizacji nie wpłynie na przeżywalność mikrobiomu w biopreparatach. W celu weryfikacji postawionych hipotez oznaczono ilościowo hodowalną frakcję mikroorganizmów przed i po liofilizacji. Ponadto oceniono żywotność komórek bakteryjnych i dokonano identyfikacji bakterii na podstawie wyników sekwencjonowania 16S rRNA.
Przeprowadzone badania wykazały korzystny wpływ osmoprotektantów na przeżywalność mikroorganizmów w biopreparatach.

Effect of osmoprotectants on the survival of endophytes in plant lyophilisates

Biostimulation is a technology targeted at increasing crop yield, particularly, under abiotic stress. Since crop yields are most frequently decreased by soil salinity and drought, we aimed at developing the method of *Beta vulgaris* ssp. maritima microbiome – based biostimulant preparation. The plant is an ancestor of beet crops and displays increased drought and salinity tolerance. In order to optimize the microbiome inoculum preparation, we used the lyophilizates derived from roots of *Beta vulgaris cv Huzar* and *Beta vulgaris* ssp. *maritima* and supplemented with osmoprotectants (ectoine and trehalose). We hypothesized that (i) the addition of osmoprotectants would stabilize the microbiome in plant lyophilisates, (ii) the lyophilization would increase the survival of microbiome in biopreparations. These assumptions were tested by quantifying the microbial cultivable fraction of the roots before and after lyophilization. Furthermore, the viability of bacterial cells was assessed and the microbes were identified by means of 16S rRNA sequencing. For conclusion, the results demonstrated beneficial effect of osmoprotectants on the survival of microorganisms in biopreparations.

Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki (wniosek nr UMO-2016/21/B/NZ9/00840).

Mikroflora archeologicznej ceramiki w analizie metagenomowej

Anna Otlewska[1], Katarzyna Rajkowska[1], Daiana Soto[2], Patricia Guiamet[3,4], Beata Gutarowska[1]

[1] Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka
[2] Instituto de Arqueología (IA), Facultad de Filosofía y Letras, UBA, CABA, Argentina
[3] Instituto de Investigaciones Físicas Químicas Aplicadas (INIFTA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, CCT La Plata- CONICET, La Plata, Buenos Aires, Argentina
[4] Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina

Archeologiczna ceramika użytkowa kultury Aguada stanowi jedno z najbogatszych źródeł informacji o przeszłości i historii ludzkości. Jednak, na przestrzeni lat ze względu na źródło pochodzenia oraz wpływ zmieniających się warunków środowiska podlegała ona procesom biodeterioracji. Wśród ceramiki tej kultury wyróżnia się ceramikę szlachetną i rustykalną. Pierwsza charakteryzowała się homogenną i zwartą matrycą, wypalaną w temperaturach 850-1100°C. Matryca ceramiki rustykalnej wypalana była w znacznie niższych temperaturach 550-750°C. Celem badań było określenie różnorodności mikroflory (bakterie i grzyby) kolonizującej fragmenty archeologicznej ceramiki kultury Aguada pochodzącej ze stanowisk archeologicznych w La Cuestecilla i Valle Hermoso, znajdujących się w północnej części prowincji La Rioja (Argentyna) z zastosowaniem sekwencjonowania nowej generacji na platformie Illumina. DNA genomowe wyizolowano bezpośrednio z ceramiki, a do konstrukcji bibliotek genów zastosowano dwie pary starterów uniwersalnych, komplementarnych do regionu V3-V4 genu 16S rRNA (bakterie) i regionu ITS (grzyby). W badanych próbkach ceramiki wykryto 158 rodzajów bakterii należących do 15 klas, wśród których dominowały *Actinobacteria* (43 - 77%) i *Proteobacteria* (10 - 27%). *Actinobacteria* reprezentowane były głównie przez rodzaje *Kribella*, *Streptomyces*, *Geodermatophilus*, *Pseudonocaria*, natomiast *Proteobacteria* przez *Rubellimicrobium* i *Kaistobacter*. Wśród grzybów zidentyfikowano 105 rodzajów obejmujących 16 klas. W próbkach ceramiki archeologicznej stwierdzono obecność grzybów z rodzaju *Phialocephala* (klasa *Leotiomycetes*) oraz *Thielavia*, *Acremonium* i *Fusarium* (klasa *Sordariomycetes*).

Microflora of archaeological ceramics analyzed with metagenomics

The archeological pottery of La Aguada culture represents a valuable source of information about the history of humankind. However, over the years due to its origin and changing environmental conditions it has undergone biodeterioration processes. Ceramics from archaeological sites which belong to La Aguada culture consist of both fine dinnerware and rustic pottery. The former had complex matrix and it was fired at higher temperature 850-1100°C. In contrary, rustic pottery was fired at lower temperature, i.e. 550 to 750°C. The aim of the research was to give an insight into diversity of microflora (bacteria and fungi) colonizing archeological La Aguada pottery from the archaeological sites La Cuestecilla and Valle Hermoso situated in the north of La Rioja Province (Argentina) with using high-throughput sequencing on the Illumina platform. Libraries were constructed using primers corresponding to V3-V4 hypervariable region of 16S rRNA gene (bacteria) and ITS region (fungi). High-throughput DNA sequencing data revealed the presence of 158 bacterial genera belonging to 15 classes, among which *Actinobacteria* (43 - 77%) and *Proteobacteria* (10 - 27%) were predominant. *Actinobacteria* were represented mainly by genera: *Kribella, Streptomyces, Geodermatophilus, Pseudonocaria*, while *Proteobacteria* by *Rubellimicrobium* and *Kaistobacter*. Among fungi, 105 genera including 16 classes were identified. In archaeological ceramics samples, fungal genera *Phialocephala* (class *Leotiomycetes*) and *Thielavia*, *Acremonium* and *Fusarium* (*Sordariomycetes*) were present.

Referaty
Nowoczesne metody badań i identyfikacji bekterii

Czy *Weissella ceti* (Firmicutes) rozprzestrzeniają się za pośrednictwem komarów?

Artur Trzebny[1], Anna Słodkowicz-Kowalska[2], Mirosława Dabert[1]

[1]Wydziałowa Pracownia Technik Biologii Molekularnej, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

[2]Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Wydział Lekarski I, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komary, które są wektorami m.in. zarodźców malarii, arbowirusów i bakterii wywołujących bartonellozy, często są gospodarzami mikrosporydiów. Celem pracy było porównanie mikrobiomu komarów zainfekowanych i wolnych od pasożytów na przykładzie koinfekcji mikrosporydiami. Za pomocą sekwencjonowania celowanego metodą Ion Torrent przeskanowano >200 osobników komarów zebranych w okolicach Poznania. Gatunki komarów, mikrosporydiów i bakterii oznaczono na podstawie, odpowiednio, sekwencji COI, rejonu V5 18S rDNA i rejonu V4 16S rDNA. Na podstawie sekwencji COI, komary przypisano do 7 gatunków należących do 3 rodzajów (*Coquillettidia, Ochlerotatus i Aedes*). Mirosporydia odnotowano u 52,4% komarów reprezentujących wszystkie gatunki. Ogółem w komarach zidentyfikowano 6 rodzajów mikrosporydiów i 49 rodzajów bakterii. Gammaproteobakterie (*Erwinia, Serratia* oraz *Pseudomonas*) dominowały zarówno u komarów zainfekowanych (56% - 74%) jak i wolnych od mikrosporydiów (60% - 98%). Odnotowano 11 gatunków bakterii występujących wyłącznie u komarów niezainfekowanych. Stwierdzono, że jeden gatunek bakterii, *Weissella ceti* (Firmicutes) występował wyłącznie w koinfekcji z mikrosporydiami (ok.18% zakażonych komarów; brak związku z gatunkiem komara lub mikrosporydium). Bakterie *W. ceti* uznawane są od niedawna za główny czynnik chorobowy w hodowlach pstrąga tęczowego. Występowanie W. ceti w koinfekcji z mikrosporydiami może sugerować drogi rozprzestrzeniania się tych bakterii między różnymi zbiornikami wodnymi.

Does *Weissella ceti* (Firmicutes) use microsporidia to spread?

Mosquitoes, that could be vectors of plasmodium malariae, arboviruses, and bacteria caused bartonellosis, are often hosts of microsporidia. The aim of our study was to compare the microbiome of mosquitoes infected and free from microsporidia. More than 200 mosquitoes collected near Poznań were screened using Ion Torrent targeted-sequencing. Mosquito, microsporidian and bacterial species were determined based on COI, V5 18S and V4 16S rDNA sequences, respectively. The mosquitoes were assigned to 7 species belonging to *Coquillettidia, Ochlerotatus* and *Aedes* genera. More than half of mosquitoes (52.4%), representing all species, were infected with microsporidia. In total 6 types of microsporidia and 49 bacterial genera were identified in mosquitoes. Gammaproteobacteria (*Erwinia, Serratia* and *Pseudomonas*) dominated in both infected (56% - 74%) and uninfected (60% - 98%) mosquitoes. Eleven species of bacteria were found exclusively in uninfected mosquitoes. We identified one species of bacteria, *Weissella ceti* (Firmicutes) that occurred only in co-infection with microsporidia (ca. 18% of infected mosquitoes, no relationship with the mosquito or microsporidium species). *Weissella ceti* has recently been considered as a major causative agent of disease in rainbow trout. The occurrence of *W. ceti* in co-infection with microsporidia may suggest the routes of Weissella transmission among different water reservoirs.

Metataksonomika w ujęciu najnowszych metod bioinformatycznych na przykładzie bakteryjnych regionów 16S rRNA oraz grzybowych ITS

Jarosław Grządziel, Anna Gałązka
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, ul. Czartoryskich 8, Puławy, jgrzadziel@iung.pulawy.pl

Identyfikacja mikroorganizmów została zrewolucjonizowana poprzez dynamicznie rozwijającą się dziedzinę badań, często nazywaną metagenomiką, a w ostatnich latach, poprawniej metataksonomiką. Jednak, ciągle brakuje ujednoliconej metodyki opracowywania uzyskanych wyników. Wraz z coraz szybszym rozwojem mocy obliczeniowej komputerów, możliwe staje się zaimplementowanie nowych rozwiązań. Jednym z nich jest zastąpienie tradycyjnego klastrowania sekwencji w oparciu o 97% podobieństwo w tak zwane operacyjne jednostki taksonomiczne (z ang. Operational Taxonomic Units , OTU), dokładnymi wariantami sekwencji (ang. exact Amplicon Sequence Variants, AVS), których zdolność rozdzielcza identyfikacji wynosi nawet jeden nukleotyd, umożliwiając z większą precyzją identyfikację do poziomu rodzaju czy gatunku. Wydajne komputery oraz dostęp do szybkich serwerów umożliwiają również wprowadzenie zaawansowanych metod przypisywania taksonomii, opierających się na uczeniu maszynowym (Bayesowski klasyfikator RDP), zastępując heurystyczne mechanizmy wykorzystywane m.in. w programie BLAST, które są dużo szybsze w działaniu, ale nie gwarantują optymalnego dopasowania. Obecnie proponowane rozwiązania umożliwiają nie tylko bardziej precyzyjne i powtarzalne opracowywanie wyników analiz, ale również i przede wszystkim wpływają na powtarzalność analiz pomiędzy próbkami, a nawet laboratoriami.

Metataxonomics in terms of the current bioinformatics methods on the example of bacterial 16S rRNA regions and fungal ITS

The identification of microorganisms has been revolutionized by a dynamically developing field of research, often referred to as metagenomics, and in recent years as more correctly metataxonomics. However, there is still no unified methodology for bioinformatics analysis of the results obtained. As the computing power develops dramatically, it is possible to implement new computing solutions. One of them is the replacement of traditional 97% similarity clustering into so-called Operational Taxonomic Units (OTUs), with exact Amplicon Sequence Variants (AVS) with up to one nucleotide resolution to allow more precise identification to genus or species level. High-performance computers and access to high-speed servers also enable the implementation of advanced taxonomy assignment methods based on machine learning (Bayesian RDP classifier), replacing heuristic mechanisms such as BLAST, which is much faster to operate but does not guarantee optimal matching. The currently proposed solutions enable not only more precise analysis but also and most importantly, increase the repeatability of analyses between samples and even laboratories.

Znaczenie doustnego szczepienia lisów w zwalczaniu wścieklizny w Polsce

Anna Marzec, Marcin Smreczak, Anna Orłowska, Paweł Trębas

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Wirusologii, anna.marzec@piwet.pulawy.pl

Wścieklizna jest groźną zoonozą rejestrowaną oraz zwalczaną z urzędu. Czynnikiem etiologicznym choroby jest wirus wścieklizny należący do rodzaju *Lyssavirus*. Transmisja wirusa następuję zazwyczaj podczas pogryzienia, oślinienia, pokąsania przez chore zwierzę. Choroba ma zasięg globalny. Bezpośrednio po drugiej wojnie światowej pies był głównym rezerwuarem wirusa wścieklizny w Polsce. Wprowadzenie corocznych, obowiązkowych, szczepień psów przeciwko wściekliźnie wyeliminowało chorobę u tego gatunku zwierząt. Rolę wektora i rezerwuaru wirusa wścieklizny przejął lis rudy. Od 1993 prowadzone są doustne szczepienia lisów przeciwko wściekliźnie. Wykładanie doustnych szczepionek dla lisów spowodowało spadek liczby przypadków z 3084 (w 1993 roku) do kilkunastu rocznie.Najmniejszą liczbę dodatnich przypadków wścieklizny w Polsce wykryto w 2009 roku (8 przypadków). Wybuch wścieklizny w 2010 roku w Małopolsce spowodował wzrost liczby przypadków choroby. Największą liczbę dodatnich przypadków w ostatnich latach odnotowano w 2012 roku (257 przypadków) głównie u zwierząt na terenie województwa podkarpackiego i małopolskiego. Wprowadzenie dodatkowych akcji wykładania doustnych szczepionek dla lisów zaowocowało spadkiem liczby przypadków wścieklizny w kolejnych latach.

Wyjazd na konferencję sfinansowany został ze środków Konsorcjum Naukowego
"Zdrowe Zwierzę - Bezpieczna Żywność".

The importance of oral vaccination of foxes for the control of rabies in Poland

Rabies is a serious zoonosis that is registered and ex officio eradicated. The etiological agent of the disease is rabies virus of the genus *Lyssavirus*. Transmission of the virus usually occurs during biting, spitting or stinging by an infected animal. The disease has a global range. Immediately after the Second World War, the dog was the main reservoir of the rabies virus in Poland. The introduction of annual obligatory vaccination of dogs against rabies has eliminated the disease in this species of animal. The role of the vector and the reservoir of rabies virus was taken over by the red fox. Since 1993, oral vaccination of foxes against rabies has been carried out. The introduction of oral vaccines for foxes resulted in a decrease in the number of cases from 3084 (in 1993) to several cases per year. The lowest number of positive cases of rabies in Poland was detected in 2009 (8 cases). The outbreak of rabies in 2010 in Małopolskie Voivodeship caused an increase in the number of cases of the disease. The highest number of positive cases in recent years was recorded in 2012 (257 cases) mainly in animals in Podkarpackie and Małopolskie Voivodeships. The introduction of additional oral vaccine campaigns for foxes resulted in a decrease in the number of cases of rabies in the following years.

Detekcja i identyfikacja molekularna zarodników grzybów chorobotwórczych wobec roślin, przenoszonych w powietrzu

Joanna Kaczmarek[1], Akinwunmi O. Latunde-Dada [2,3], Małgorzata Jędryczka[1]

[1]Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań
[2]Rothamsted Research, Harpenden AL5 2JQ, United Kingdom
[3]University of Hertfordshire, AL10 9AB, United Kingdom

Sucha zgnilizna kapustnych jest groźną chorobą roślin oleistych. Czynnikami sprawczymi są grzyby *Leptosphaeria maculans* i *L. biglobosa*. Porażenie roślin powodowane jest przez zarodniki workowe (askospory) uwalniane z pseudotecjów, które powstają na resztkach pożniwnych z poprzedniego sezonu wegetacyjnego. Porażenie roślin następuje głównie w okresie jesiennym. Zarówno *L. maculans*, jak i *L. biglobosa* rozprzestrzeniają się bezobjawowo z blaszki liściowej przez ogonek liściowy do łodygi, powodując zniszczenie tkanek. Wizualna metoda identyfikacji askospor obu gatunków *Leptosphaeria* jest pracochłonna i ograniczona z powodu podobieństwa zarodników wielu gatunków patogenów. Askospory *L. maculans* i *L. biglobosa* są morfologicznie podobne, mikroskopia świetlna nie może być stosowana do rozróżniania zarodników stadium płciowego. Metody biologii molekularnej umożliwiają amplifikację niewielkich ilości DNA, które można wyodrębnić z zarodników wychwytywanych z powietrza i unieruchamianych na taśmach typu Melinex. Możliwa jest natenczas detekcja na poziomie gatunkowym i ilościowe oznaczanie obfitości tych zarodników. Tę samą metodę można stosować do wielu gatunków patogenów pod warunkiem opracowania starterów gatunkowo-specyficznych. Możliwe jest także wykrywanie chemotypów, typów kojarzeniowych i określonych wariantów genetycznych danego patogena.podwójnego zasiedlenia) w brodawkach soi z wykorzystaniem pojedynczej reakcji qPCR-HRM.

Detection and molecular identification of airborne fungal spores pathogenic to plants

Blackleg or phoma stem canker is a damaging disease of oilseed crops. The causative agents are the fungi *Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa*. The epidemics is initiated by airborne ascospores released from pseudothecia which are formed on stubble from the previous season. These ascospores initiate epidemics starting mainly in the autumn. Both *L. maculans* and *L. biglobosa* spread asymptomatically from the leaf lamina through the petiole to the stem, where the pathogens invade and kill host cell tissue, resulting in the formation of stem cankers or upper stem lesions. Visual method of identification ascospores of both *Leptosphaeria* species is not only laborious but also has limited species-discriminating usefulness. In addition, as *L. maculans* and *L. biglobosa* ascospores are morphologically similar, light microscopy cannot be used to distinguish between these sexual spores. Molecular biological methods enable the amplification of small amounts of DNA extractable from airborne propagules that are trapped on Melinex tapes and permit both species-level discrimination and quantification of the abundance of these spores. The same method can be used for many pathogens, provided the species-specific primers have been elaborated. It is also possible to detect the chemotypes, mating types or different genetic variants of the pathogen.

Mikrobiom glebowy towarzyszący Plasmodiophora brassicae

Witold Irzykowski[1], Katarzyna Marzec-Schmidt[2], Noor Ramzi[1], Małgorzata Jędryczka[1]

[1]Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań
[2]Zakład Biotechnologii, Wydział Biologii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Umultowska 89, 61-614 Poznań

Kiła kapusty, powodowana przez pierwotniaki należące do gatunku *Plasmodiophora brassicae*, jest groźną chorobą roślin kapustowatych (Brassicaceae), w tym rzepaku, warzyw i chwastów. Z uwagi na duże uproszczenia w uprawie rzepaku, zaniechanie właściwego płodozmianu oraz uprawę na glebach o niskim pH – sprzyjającym rozwojowi choroby –w ostatnich latach obserwuje się duże nasilenie i znacznie rozprzestrzenienie czynnika sprawczego. Plony uzyskane z roślin rzepaku z objawami kiły kapusty są znikome, a rozkładające się narośla na korzeniach stanowią źródło choroby w kolejnych latach uprawy. Tymczasem rzepak to najważniejsza roślina oleista klimatu umiarkowanego, a zatem sytuacja wymaga natychmiastowej interwencji. Głównym kierunkiem zapobiegania rozprzestrzenianiu kiły kapusty są odmiany z genetyczną odpornością lub tolerancją względem tej groźnej choroby. Nadzieje niesie także ochrona biologiczna i zastosowanie mikroorganizmów antagonistycznych. Celem badań było oznaczenie bakterii i grzybów stanowiących mikrobiom glebowy towarzyszący pierwotniakowi *P. brassicae*. Znajomość jego składu pozwoli na wytypowanie mikroorganizmów o potencjalnym działaniu hamującym bądź ograniczającym wzrost tego patogena. W badaniach zastosowano metodę 'shotgun metagenomics'. DNA wyizolowane z prób gleby dzielono na fragmenty wielkości 100-300 pz, a następnie sekwencjonowano. Dzięki temu zapobiegano błędom i limitom detekcji PCR obserwowanym w regularnych analizach opartych na identyfikacji z zastosowaniem podjednostki 16S rDNA. Do identyfikacji mikroorganizmów stosowano bazy danych NCBI i ENSMBL.

Soil microbiome accompanying Plasmodiophora brassicae

Clubroot, caused by the protest belonging to the species *Plasmodiophora brassicae*, is a damaging disease of brassicas (Brassicaceae), including rapeseed, vegetables and weeds. Due to the simplifications in the cultivation of oilseed rape, discontinuation of proper crop rotation and cultivation on soils with low pH – conducive to the development of the disease –there has been a large increase in the spread of the causative agent in recent years. The yield of rapeseed with the symptoms of clubroot is negligible, and clubs on decaying roots are the source of the disease in the subsequent years of its cultivation. Meanwhile, rapeseed is the most important oil plant in the temperate climate, so the situation requires immediate intervention. Currently, the main direction of preventing the spread of clubroot is the cultivation of varieties with genetic resistance or tolerance to this dangerous disease. The future may also depend on the use of biological protection and antagonistic microorganisms. The aim of the study was to determine (by NGS) the bacteria and fungi that constitute soil microbiome accompanying protozoan *P. brassicae*. Knowledge of its composition will help to select microorganisms with potential for inhibition or reduction of the growth of this pathogen. The studies used 'shotgun metagenomics' approach. DNA obtained from soil samples was fragmented into 100-300 bp fragments and then sequenced. This prevented PCR bias and detection limits observed with regular 16S-based rDNA analyses. The results were studied using the NCBI or ENSMBL databases.

Różnorodność genomowa mikrospołeczności ryzosferowej i endofitycznej koniczyny białej zasiedlającej hałdę Zn-Pb w Polsce

Ewa Oleńska[1], Jaco Vangronsveld[2], Sofie Thijs[2], Wanda Małek[3]

[1]University of Bialystok, Institute of Biology, Department of Genetics end Evolution, Ciolkowskiego 1J, 15-245 Bialystok, Poland
[2]Hasselt University, Centre for Environmental Sciences, B-3590 Diepenbeek, Belgium
[3]Maria Curie Sklodowska University, Institute of Microbiology and Biotechnology, Department of Genetics and Microbiology, Akademicka 19, Lublin, Poland

Zwałowiska pokopalniane rud cynku i ołowiu są stanowiskami o wysokim stężeniu metali ciężkich, ubogimi w wodę i składniki odżywcze. Metale ciężkie obecne w glebie, mogą działać jako czynnik selekcji naturalnej, i w istotny sposób przyczyniać się do modyfikacji struktury taksonomicznej mikrospołeczności ryzosferowej. W rezultacie, może to prowadzić do utrwalenia genotypów tolerujących metale, które mogłyby wpłynąć pozytywnie na wzrost roślinnych gospodarzy, o właściwościach remediacyjnych. ARISA (ang. *automated ribosomal intergenic spacer analysis*) jest jedną z metagenomowych technik, niezależnych hodowalnie, opartej na PCR, automatycznej analizy zmienności genetycznej mikrospołeczności środowiskowych na podstawie elektroforezy kapilarnej fragmentów 16S-23S rRNA. Celem pracy jest ocena poziomu zmienności genetycznej bakteryjnej mikrospołeczności ryzosferowej, oraz endofitycznej (korzeni, brodawek i liści) koniczyny białej (*Trifolium repens*), zasiedlającej starą, około 100-letnią hałdę Zn-Pb Bolesław (Płd. Polska), i porównanie jej z poziomem zmienności genetycznej mikrospołeczności bakteryjnej pochodzącej ze stanowiska kontrolnego na podstawie analizy ARISA, przy wykorzystaniu starterów: itsF i itsReub.

Genomic diversity of rhizospheric and endophytic microcommunities of white clover inhabiting Zn-Pb waste-heap in Poland

Post-mining deposits of zinc and lead ores are highly heavy metal polluted areas, with deficiency of water and nutrients as well. Heavy metals present in the soil may act as a factor of the natural selection pressure, shaping the taxonomical structure of the microcommunities. As the result, the genotypes of the high resistance to heavy metals may be fixed, which usually are able to improve the growth of plants, and those with a remediative potential too. Automated ribosomal intergenic spacer analysis is the one of metagenome tools, culture-independent, PCR-based and automated technique used for detection of taxonomical genetic diversity of environmental microcommunities, based on the capillary electrophoresis of 16S-23S rRNA fragments. The aim of present study was to estimate the metagenome polymorphism of bacterial rhizosphere and endophyte (roots, nodules and leaves) communities of white clover (*Trifolium repens*), inhabiting the old, about 100-yrs-old Zn-Pb Bolesław waste heap (S. Poland), with compare to control microcommunities according the ARISA course, with the usage of itsF and itsReub primers.

Molekularna analiza populacji zasiedlających brodawki korzeniowe soi

Krzysztof Pudełko, Dorota Narożna, Joanna Króliczak, Cezary Mądrzak

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

Soja [*Glycine max* (L.) Merr.] jest rośliną uprawną o wciąż nieustabilizowanej pozycji w Polsce, jednak obserwuje się powolny, ale systematyczny wzrost jej produkcji. W glebach polskich nie występują rodzime szczepy *Bradyrhizobium japonicum* zdolne do brodawkowania soi. Brak naturalnie występujących mikrosymbiontów soi w polskich glebach stwarza wyjątkowe możliwości badania trwałości, stabilności i konkurencyjności wprowadzonych populacji bradyrizobiów. Prezentowane tutaj badania opierają się na wieloletnich doświadczeniach polowych dotyczących brodawkowania soi, założonych wiosną 1994 r. w Gorzyniu, w RZD Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. W doświadczeniu tym badano dynamikę i wzajemną konkurencyjność populacji *B. japonicum* USDA 110 i USDA 123 wprowadzonych do gleby, w której wcześniej nie występowały mikrosymbionty soi. Po 22 latach od inokulacji, do gleby o już dobrze ustalonej równowadze dwóch populacji *B. japonicum* (USDA 110 i USDA 123), wprowadzono dodatkowe dwa szczepy zdolne do brodawkowania soi (*B. japonicum* USDA 442 i *B. elkanii* USDA 472).W prezentowanej pracy podjęto próbę opracowania metody szybkiej identyfikacji szczepów *B. japonicum* z brodawek soi z wykorzystaniem metody wysokorozdzielczej analizy topnienia DNA (high-resolution melting; HRM). HRM polega na różnicowaniu alleli poprzez analizę temperatury topnienia produktów amplifikacji uzyskanych metodą PCR w czasie rzeczywistym (qPCR). W prezentowanej pracy analiza ukierunkowana była na zmienną część powszechnie występującego u bakterii genu dla rekombinazy A (*recA*), a jako matrycę qPCR stosowano całkowite bakteryjne (bakteroidalne) DNA z brodawek. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość szybkiej identyfikacji co najmniej czterech różnych szczepów bakteryjnych i ich mieszanin (w przypadku podwójnego zasiedlenia) w brodawkach soi z wykorzystaniem pojedynczej reakcji qPCR-HRM.

Molecular analysis of bacterial populations from soybean nodules.

Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] is still an emerging crop in Poland, however, there has been systematic increase in its production. There are no indigenous *Bradyrhizobium japonicum* strains forming nitrogen-fixing, root nodule symbioses with soybeans in arable lands in Poland. The lack of naturally occurring microsymbionts of soybean in Polish soils provides unique opportunities to study the persistence, stability and competitiveness of introduced *Bradyrhizobia*. The research presented here is based on soybean nodulation field experiments, established in the spring of 1994 at the Poznań University of Life Sciences Experimental Station in Gorzyń. Long-term studies were conducted in order to study the relation between *B. japonicum* USDA 110 and USDA 123 where no soybean rhizobia were earlier detected. After 22 years from the inoculation, the additional two strains (*B. japonicum* USDA 442 and *B. elkanii* USDA 472) of soybean microsymbionts were introduced into the soil with already well established balance of two *B. japonicum* (USDA 110 and USDA 123) populations. In the presented work, an attempt was made to develop a method for the rapid identification of *B. japonicum* strains occupying root nodules of soybean by high-resolution melting (HRM) analysis. HRM is aimed at discriminating DNA alleles through melting temperature analysis of real-time PCR amplification. The analysis was targeted on the variable part of the common bacterial recombinase A (*recA*) gene and the total bacterial (bacteroidal) DNA from nodules was used as qPCR matrix. The results show the possibility of rapid identification of at least four different bacterial strains and their mixtures (in case of double occupancy) in soybean nodules, with a single qPCR-HRM reaction.

Oporność wielolekowa grzybów z rodzaju *Candida* na azole po stymulacji metotreksatem – badania pilotażowe

Katarzyna Góralska, Ewa Brzeziańska-Lasota

Zakład Biomedycyny i Genetyki, Katedra Biologii i Mikrobiologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Jednym z istotnych mechanizmów nabywania oporności przez grzyby z rodzaju *Candida* na leki przeciwgrzybicze jest nadekspresja transporterów błonowych, które odpowiadają za aktywne wypompowywanie ksenobiotyków, w tym leków, z komórki. Lekiem z wyboru przypadku kandydozy jest najczęściej flukonazol, który jest substratem dla transporterów typu MDR (ang. multidrug resistance). Transportery te mają powinowactwo do metotreksatu, stosowanego w leczeniu m. in. reumatoidalnego zapalenia stawów. Celem badań była ocena zdolności grzybów z rodzaju *Candida* do wytworzenia oporności na azole w wyniku stymulacji metotreksatem. Do badań wykorzystano szczepy wzorcowe należące do trzech gatunków: *Candida albicans* (4 szczepy), *Candida parapsilosis* (2 szczepy) oraz *Candida guilliermondii* (obecna nazwa *Myerozyma guilliermondii*, 1 szczep). Ocenę wrażliwości na trzy wybrane antymikotyki azolowe (flukonazol, worykonazol i itrakonazol) przeprowadzono metodą mikrorozcieńczeń EUCAST, w interpretacji CLSI. Stymulację oporności przeprowadzono metrotreksatem dwukrotnie w zakresie dawek 0,088-45 µg/ml. Wszystkie badane szczepy wykazywały wrażliwość na wybrane azole, na poziomie MIC 0,5-2µg/ml. Dwa szczepy *C. albicans* wykazywały całkowitą oporność na metotreksat. Dla pozostałych pięciu szczepów wzorcowych ustalono wartość MIC na poziomie 1,4-5,6 µg/ml. Po dwukrotnej ekspozycji na metotrekstat wszystkie badane szczepy wykazały oporność na metotreksat na poziomie ≥45µg/ml oraz flukonazol na poziomie ≥64 µg/ml. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono występowanie oporności krzyżowej u grzybów z rodzaju *Candida* pomiędzy metotreksatem a flukonazolem. Wyniki badań sugerują możliwość nabywania oporności na flukonazol przez szczepy występujące u pacjentów leczonych metrotrekastem, pomimo że pacjent nigdy nie był leczony flukonazolem.

Multidrug resistance of *Candida* spp. on azoles after stimulation with methotrexate - pilot studies

One of the important mechanisms of acquiring resistance by *Candida* spp. to antifungal drugs is membrane transporters overexpression, which are responsible for actively pumping out xenobiotics, including drugs, from the cell. The drug of choice for candidiasis is usually fluconazole, which is a substrate for MDR (multidrug resistance) transporters. The same transporters have an affinity for methotrexate, used in the rheumatoid arthritis treatment.The aim of the study was to assess the ability of *Candida* spp. to create resistance to azoles as a result of methotrexate stimulation. Reference strains belonging to three species: *Candida albicans* (4strains), *Candida parapsilosis* (2 strains) and *Candida guilliermondii* (current name *Myerozyma guilliermondii*, 1 strain) were used. The evaluation of sensitivity to the three selected azole antimycotics (fluconazole, voriconazole and itraconazole) was carried out by the EUCAST microdilution method, in the CLSI interpretation. Stimulation of resistance was performed with methotrexate twice in the range of 0.088-45 µg/ml. All tested strains showed sensitivity to selected azoles, at the MIC level of 0.5-2 µg/ml. Two C. albicans strains showed complete resistance to methotrexate. For the remaining five reference strains, a MIC value of 1.4-5.6 µg/ml was determined. After two methotrexate exposures, all strains tested exposed resistance to methotrexate and fluconazole at the level ≥ 45µg/ml and at ≥ 64µg/ml respectively. Based on the conducted studies, cross-resistance was found in *Candida* spp. between methotrexate and fluconazole. The results suggest the possibility of acquiring resistance to fluconazole by strains in patients treated with methotrexate, excluding previous treatment with fluconazole.

Analiza molekularna glebowych populacji mikrosymbiontów łubinu

Dorota Narożna, Krzysztof Pudełko, Joanna Króliczak, Cezary Mądrzak

Uniwersytet Przyrodniczy , Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

Układy symbiotyczne roślin bobowatych z bakteriami rodzaju *Bradyrhizobium* uwarunkowane są występowaniem w glebie rdzennych szczepów bakterii zdolnych do brodawkowania rośliny gospodarza oraz odpowiedniej liczebności tych populacji. Niektóre mikrosymbionty roślin bobowatych występują w glebie zawsze, niezależnie od jej rodzaju i żyzności (mikrosymbionty koniczyny, grochu, bobiku i łubinu), inne nie występują we wszystkich glebach (mikrosymbionty lucerny, soi). Liczebność populacji bakterii symbiotycznych w glebach uprawnych jest ważna z praktycznego punktu widzenia, ponieważ może być podstawą do racjonalnego stosowania preparatów szczepionkowych zawierających mikrosymbiontów uprawianych roślin bobowatych. Metody biologii molekularnej i dostępność informacji o sekwencjach DNA pozwala na opracowanie wiarygodnych metod badania liczebności i składu populacji mikroorganizmów glebowych w oparciu o analizy DNA. W prezentowanej pracy opracowano metodę identyfikacji rdzennych mikrosymbiontów łubinu w glebie w oparciu o geny symbiotyczne (*nodA i nodZ*) *Bradyrhizobiu japonicum*. Opracowana metoda pozwala ocenić liczebności populacji bradyrizobiów występujących w glebach uprawnych w krótkim czasie w wielu próbkach jednocześnie.

Praca została w części sfinansowana ze środków NCBiR, projekt nr PBS3/A8/28/2015 o akronimie SEGENMAS.

Molecular analysis of soil populations of lupine microsimbionts

Symbiotic systems of fabaceae plants with *Bradyrhizobium* are conditioned by the presence in the soil of indigenous bacteria capable of nodulating the host plant and the appropriate population size of these populations. Some microsymbiontes of fabaceae plants occur in the soil always, regardless of its type and fertility (microsymbionts of clover, pea, horse bean and lupine), others do not occur in all soils (alfalfa, soy). The population size of symbiotic bacteria in cultivated soils is important from a practical point of view, because it may be the basis for the rational use of vaccine preparations containing microsymbiotes of cultivated legumes. Molecular biology methods and the availability of information on DNA sequences allow the development of reliable methods for testing the number and composition of soil microorganisms based on DNA analysis. In the presented work, a method for the identification of lupine indigenous microsymbionts in the soil was developed based on symbiotic genes (*nodA and nodZ*) *Bradyrhizobiu japonicum*. The developed method allows to assess the number of Bradyrhizobium populations occurring in arable soils in a short time in many samples at the same time.

Referaty

Metagenomika a jakość środowiska

CPDb – nowa baza danych starterów do PCR umożliwiających identyfikację genów oporności na antybiotyki w różnych środowiskach

Adrian Górecki, Przemysław Decewicz, Mikołaj Dziurzyński, Łukasz Dziewit

Zakład Genetyki Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Obecnie, geny oporności na antybiotyki (ARGs) są znajdowane niemalże we wszystkich typach środowisk, w tym tych ukształtowanych przez człowieka jak i w pierwotnych, antropogenicznie niezmienionych. Bakterie oporne na antybiotyki oraz ARGs zostały uznane za tzw. nowo powstałe zanieczyszczenia biologiczne. Jest wiele metod detekcji ARGs w próbkach środowiskowych, jednak te najtańsze i najszybsze zwykle bazują na PCR. Celem tego projektu było stworzenie bazy danych starterów do PCR umożliwiających identyfikację genów oporności na antybiotyki w różnych środowiskach. Taka baza, Curated Primers Database (CPDb), została stworzona w oparciu o dane literaturowe i jest dostępna pod adresem cpdb.ddg.biol.uw.edu.pl. Obecnie baza zawiera 607 par starterów, które zostały zaprojektowane przez różnych naukowców do amplifikacji 169 różnych genów, warunkujących oporność na antybiotyki należące do różnych klas, w tym: (i) aminoglikozydy (16 par), (ii) amfenikole (20), (iii) β-laktamy (171), (iv) glikopeptydy (33), (v) antybiotyki z grupy MLS (80), (vi) polimyxyny (8), (vii) chinolony (34), (viii) sulfonamidy (59), (ix) tetracykliny (171) oraz (x) 15 par starterów umożliwiających amplifikacje genów kodujących pompy usuwające różne antybiotyki. Baza została wyposażona w wewnętrzny ranking par starterów, który jest oparty o 3 parametry, tj. specyficzność (S), skuteczność (E) oraz skuteczność względem grup taksonomicznych (TE). Te parametry zapewniają właściwą walidację i ułatwiają wybór starterów właściwych dla danego zastosowania.

CPDb – novel database of PCR primers for identification of antibiotic resistance genes in various environments

Currently, antibiotic resistance genes (ARGs) are being found in almost all kinds of environments, including these anthropogenically-shaped, but also pristine ones. Antibiotic resistant bacteria and ARGs are considered as emerging biological pollutants. There are several methods enabling detection of ARGs, but the cheapest and fastest ones base on PCR. The aim of the study was to create the Curated Primers Database (CPDb) of PCR primers useful for detection of various ARGs. Such database was created based on the thorough scientific literature review and is available under the following link: cpdb.ddg.biol.uw.edu.pl. Currently, this database contains 607 primer pairs which were designed to be used for amplification of 169 different ARGs conferring resistance to various antibiotics classes including: (i) aminoglycosides (16 primer pairs), (ii) amphenicols (20), (iii) β-lactams (171), (iv) glycopeptides (33), (v) MLS-group (80), (vi) polymixins (8), (vii) quinolones (34), (viii) sulfonamides (59), (ix) tetracyclines (171) and (x) 15 primers designed for amplification of sequences encoding multidrug resistance pumps. The database contains an internal ranking of the PCR primers based on 3 parameters calculated for all tested primers, i.e. specificity (S), efficacy (E), and taxon efficacy (TE). These parameters allow validation and selection of the most appropriate primers for particular purposes.

Charakterystyka rezystomu ścieków miejskich

Nicoletta Makowska, Joanna Mokracka

Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Występowanie integronów i genów oporności na antybiotyki w środowisku uważane jest za zanieczyszczenie biotyczne i problem ekologiczny. Celem badań było określenie rodzaju i częstości występowania integronów oporności i genów warunkujących oporność na antybiotyki β-laktamowe w metagenomie ścieku Centralnej Oczyszczalni Ścieków w Koziegłowach koło Poznania. W badaniach wykorzystano całkowity DNA wyizolowany ze ścieku surowego, osadu czynnego i ścieku oczyszczonego. Ilościową analizę genów integronów i genów warunkujących oporność na antybiotyki β-laktamowe, określano na podstawie amplifikacji genów integrazy *intI1*,*bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{TEM}}$, *bla*$_{\text{SHV}}$, *bla*$_{\text{GES}}$, *bla*$_{\text{OXA}}$, *bla*$_{\text{OXA-48}}$, *bla*$_{\text{NDM}}$, *bla*$_{\text{VIM}}$ i *bla*$_{\text{KPC}}$ oraz genu 16S rRNA z wykorzystaniem metody real-time PCR (qPCR) i droplet digital PCR (ddPCR). Obecność genów *intI1* i β-laktamaz odnotowano we wszystkich próbach. Stwierdzono, że częstość występowania genów *intI1*, *bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{TEM}}$, *bla*$_{\text{SHV}}$, *bla*$_{\text{GES}}$ i *bla*$_{\text{OXA-48}}$ wzrasta w ścieku oczyszczonym w stosunku do częstości występowania ww. genów w ścieku surowym. W ściekach miejskich obecne są integrony oporności i geny stwarzające największe zagrożenie dla zdrowia publicznego. Ponadto, proces oczyszczania ścieków sprzyja zwiększeniu częstości występowania niektórych genów w ścieku oczyszczonym, co w konsekwencji zwiększa ich transmisję do środowiska.

Praca sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji nr DEC-2015/17/N/NZ9/00954.

Characteristics of municipal wastewater resistome

The presence of integrons and antibiotic resistance genes (ARGs) in the environment is considered biotic pollution and ecological problem. The aim of the study was to evaluate the occurrence and abundance of resistance integrons and significant β-lactam resistance genes in the wastewater metagenome of Central Wastewater Treatment Plant in Koziegłowy near Poznań. The total microbial DNA isolated from the raw sewage, activated sludge and purified effluent was used in the study. Integron integrase gene *intI1* and genes conferring resistance to β-lactams: *bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{TEM}}$, *bla*$_{\text{SHV}}$, *bla*$_{\text{GES}}$, *bla*$_{\text{OXA}}$, *bla*$_{\text{OXA-48}}$, *bla*$_{\text{NDM}}$, *bla*$_{\text{VIM}}$ i *bla*$_{\text{KPC}}$ as well as 16S rRNA gene present in the metagenomic DNA were quantified by real-time PCR (qPCR) and digital droplet PCR (ddPCR). The class 1 integron integrase gene and β-lactam resistance genes were detected in all the samples. The abundance of *intI1* and *bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{TEM}}$, *bla*$_{\text{SHV}}$, *bla*$_{\text{GES}}$ i *bla*$_{\text{OXA-48}}$ genes increased in the final effluent in comparison with the raw sewage. Municipal sewage contains integrons and ARGs of the highest public health concern. Moreover, the increase in abundance of *intI1* and some ARGs in the final effluent indicates that wastewater treatment process might favor their proliferating and enhance the transmission of ARGs to the environment.

This work was funded by grant no. DEC-2015/17/N/NZ9/00954 from National Science Centre, Poland.

Mikrobiom ryzosferowy roślin transgenicznych w świetle analizy metagenomicznej

Jacek Kozdrój

Zakład Genetyki, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Pigonia 1, 35-310 Rzeszów

Modyfikowanie genetyczne roślin, zwłaszcza uprawnych, wzbudza szereg kontrowersji i jest przedmiotem burzliwej debaty odnośnie bezpieczeństwa produkowanych na ich bazie pasz oraz żywności. Również potencjalny wpływ roślin transgenicznych na funkcjonowanie ekosystemów glebowych i ogólnie bezpieczeństwo środowiska jest przedmiotem intensywnych dyskusji oraz badań. Jakiekolwiek zmiany w strukturalnej różnorodności społeczności mikroorganizmów i ich aktywności w ryzosferze mogą być uważane za czuły bioindykator wpływu roślin transgenicznych na żyzność i zdrowie gleby oraz ogólnie ekologię gleby. Jakkolwiek badania sugerowały, że ryzosferowe społeczności mikroorganizmów są bardziej wrażliwe niż glebowe na oddziaływania genetycznie modyfikowanych roślin uprawnych, to wpływ ten najczęściej jest niewielki i przejściowy lub nie obserwuje się żadnych istotnych zmian. Natomiast istotne zmiany wywołują czynniki środowiskowe, stadium rozwojowe rośliny i jej rodzaj. Przykładem niech będzie transgeniczna soja o zwiększonej produkcji metioniny, w której ryzosferze dominują *Acidobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Verrucomicrobia, Planctomycetes* oraz *Firmicutes*, podobnie jak w ryzosferze niezmodyfikowanej soi. Ponieważ pewne zmiany mogą być obserwowane w funkcjonalnej różnorodności ryzosferowych społeczności mikroorganizmów pod wpływem transgenicznej rośliny (np. koniczyny z genem peroksydazy ligninowej), ryzyko ekologiczne tego typu upraw powinno być każdorazowo oszacowywane. Niewątpliwie, tego typu analizy muszą jednoznacznie wykazywać czy modyfikacja genetyczna rośliny, a nie raczej rok uprawy, stadium rozwojowe czy inne czynniki środowiskowe maja decydujące znaczenie w kształtowaniu składu i fizjologicznej aktywności społeczności mikroorganizmów w ryzosferze.

Rhizosphere microbiome of transgenic plants in the light of metagenomic analysis

Genetic modification of plants, especially crops, arouses a number of controversies and is the subject of heated debate on the safety of feed and food produced on their basis. Also the potential impact of transgenic plants on the functioning of soil ecosystems and environmental safety in general is the subject of intense discussions and research. Any changes in the structural diversity of microbial communities and their activity in the rhizosphere can be considered as a sensitive bioindicator of the impact of transgenic plants on the fertility and health of the soil and, in general, soil ecology. Although research suggested that rhizosphere communities of microorganisms are more sensitive than soil to the effects of genetically modified crops, the impact is usually small and transient or no significant changes are observed. However, significant changes are caused by environmental factors, the growth stage of the plant and its type. An example is the transgenic soybean with increased methionine production, in which the rhizosphere is dominated by *Acidobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Verrucomicrobia, Planctomycetes* and *Firmicutes*, similar to the rhizosphere of unmodified soy. Since some changes can be observed in the functional diversity of rhizosphere communities of microorganisms under the influence of a transgenic plant (e.g., clover with the lignin peroxidase gene), the ecological risk of this type of crop should be estimated each time. Undoubtedly, this type of analysis must clearly show whether the genetic modification of the plant, rather than the cultivation year, the growth stage or other environmental factors are decisive in shaping the composition and physiological activity of the microbial community in the rhizospher.

POSTERY

METAGENOMIKA APLIKACYJNA

Biodegradacja węgla brunatnego w warunkach kwaśnej fermentacji melasy

Anna Detman[1], Michał Bucha[2], Bernd R.T. Simoneit[3], Damian Mielecki[1], Cezary Piwowarczyk[1], Aleksandra Chojnacka[1], Mieczysław K. Błaszczyk[4], Mariusz O. Jędrysek[5], Leszek Marynowski[2], Anna Sikora[1]

[1]Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa
[2]Uniwersytet Śląski w Katowicach, ul. Będzińska 60, 41-200 Sosnowiec, e-mail:michal.bucha@gmail.com
[3]Oregon State University, 153 Gilbert Hall, Corvallis, OR 97331, U.S.A
[4]Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
[5]Uniwersytet Wrocławski, pl. Maxa Borna 9, 50-204 Wrocław

Biogazyfikacja węgla brunatnego wydaje się być jedną z najbardziej obiecujących metod jego zagospodarowania. W ramach niniejszej pracy świeżo pobrany węgiel brunatny z odkrywki „Jóźwin IIB" umieszczono w bioreaktorze w celu stymulacji mikroflory autochtonicznej. Przez 124 dni w sposób ciągły dostarczano do bioreaktora sterylną pożywkę mineralną zawierającą melasę - produkt uboczny przemysłu cukrowniczego. W bioreaktorze obserwowano produkcję gazu bogatego w biowodór i ditlenek węgla, powstającego w wyniku kwaśnej fermentację melasy. Równocześnie, w czasie prowadzenia hodowli ciągłej nastąpił intensywny rozkład lignin, celulozy oraz wolnych (niezwiązanych) związków organicznych na skutek działania bakterii lignocelulolitycznych. Podobnych zmian nie zaobserwowano w eksperymencie kontrolnym, w którym węgiel inkubowano w roztworach kwasów organicznych. Dominującymi grupami bakterii zidentyfikowanymi w bioreaktorze pochodzącymi z węgla brunatnego wyselekcjonowanymi w warunkach opisywanego eksperymentu są *Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria i Bacteroidetes*. Ponadto, zidentyfikowano przedstawicieli 16 innych typów oraz wszystkie poznane taksony bakterii lignocelulolitycznych. Rozkład węgla brunatnego nastąpił w wyniku synergistycznej aktywności bakterii fermentujących melasę i bakterii rozkładających węgiel brunatny.

Extensive lignite degradation under conditions of acidic molasses fermentation

Biogasification seems to be the most promising use for lignite among all the known utilization methods. Here, a packed bed reactor, filled with lignite samples from the Konin region (central Poland) was supplied continuously with M9 medium, supplemented with molasses (a by-product from the sugar industry), for 124 days to stimulate the autochthonous lignite microflora. Acidic fermentation of molasses and release of hydrogen-rich fermentation gas were observed in the bioreactor. Intensive decomposition of lignin, cellulose and free (non-bound) organic compounds occurred during lignite incubation due to the activity of lignocellulolytic bacteria. These changes resulted from microbial activity since they were not observed in pure solutions of short-chain fatty acids. The 16SrRNA profiling of the microbial community in the bioreactor revealed that the dominant bacteria belonged to the *Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria and Bacteroidetes*, furthermore representatives of 16 other phyla were also found. All the known taxa of lignocellulolytic bacteria were represented in the microbial community. Synergistic relations between bacteria fermenting molasses and bacteria degrading lignite are assumed.

Supported by: The National Centre for Research and Development, BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016

Wykorzystanie wysokoprzepustowego sekwencjonowania w badaniach metagenomicznych mikroorganizmów

Aleksandra Giza, Ewelina Iwan, Arkadiusz Bomba, Dariusz Wasyl

Zakład Analiz Omicznych
Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Wysokoprzepustowe sekwencjonowanie (HTS) wykorzystywane jest m.in. w badaniach metagenomicznych bakterii i wirusów. Metoda polega na izolacji całkowitego DNA z niejednorodnej próbki (np. żywności, kału, wody, ścieków), która następnie zostaje poddana sekwencjonowaniu typu shotgun. Pozwala to na identyfikację genomów wszystkich mikroorganizmów znajdujących się w materiale badanym. Jedną z najczęściej stosowanych aplikacji metagenomicznych jest metataksonomiczne badanie mikrobiomu bakteryjnego. Zasada metody polega na analizie unikalnego dla prokariontów fragmentu genu 16S rRNA. Umożliwia to identyfikację oraz klasyfikację gatunkową bakterii oraz określenie ich procentowej dystrybucji w materiale badanym. Nie dostarcza ona natomiast informacji na temat innych genów znajdujących się w próbce. Przewagą tego typu analiz nad pełnym badaniem metagenomicznym jest znacznie mniejszy koszt i większa ilość próbek, które można sekwencjonować jednocześnie. Analiza metataksonomiczna ma szerokie zastosowanie w badaniach weterynaryjnych m.in. do badania wpływu leków, pasz oraz suplementów diety na strukturę flory bakteryjnej zwierząt, do diagnostyki mikroorganizmów chorobotwórczych oraz badań epidemiologicznych, a także do kontroli jakości i bezpieczeństwa żywności pochodzenia zwierzęcego. Tradycyjne metody mikrobiologiczne, oparte na hodowli i izolacji poszczególnych mikroorganizmów, nadal stanowią złoty standard, pomimo że nie dają pełnego wglądu w realny obraz populacji bakteryjnej w badanej próbce. Zarówno technologia HTS, jak i metody tradycyjne cechują się różnymi ograniczeniami, jednak ich połączenie stwarza potężne narzędzie diagnostyczne w badaniach nad bezpieczeństwem żywności i w diagnostyce weterynaryjnej.

Application of High Throughput Sequencing (HTS) in the metagenomic analyses of microorganisms

High Throughput Sequencing (HTS) is widely used for metagenomic surveys of bacteria and viruses. This application is based on isolation of DNA from heterogeneous samples (e.g. food, faeces, water, sewage), which are then sequenced with use of HTS. This type of shotgun sequencing allows to investigate all microorganism genomes present in the sample. One of the most frequently used metagenomic approach is bacterial metataxonomic - 16S rRNA. The 16S rRNA gene is present in all prokaryotes and is routinely used for purpose of taxonomical identification of the bacteria. Furthermore this application allows for determination of species composition of bacterial population in tested material. This approach does not provide information about additional gens present in the sample. The advantage of metataxonomics over shotgun metagenomics is cost effectiveness and higher number of samples tested simultaneously. Metataxonomic analysis has got wide application in veterinary researches e.g. for studies on the influence of medicines, feed and dietary supplementation on the structure of bacterial flora of animals, diagnostics of bacterial pathogens and epidemiological studies, as well as quality control and safety of food of animal origin. Traditional microbiological methods based on culture and isolation of given microorganisms, are still the gold standard, although they do not give full overview of microbiome of tested sample. Although both HTS and traditional approach separately are imperfect but in combination they give powerful diagnostic tool for food safety and veterinary diagnostics.

Zwalczanie bakterii z rodz. *Enterococcus* preparatami zawierającymi nanocząstki srebra

Krystyna Cybulska, Anita Kokolus, Sanaa Oraibi

Zakład Chemii, Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin
krystyna.cybulska@zut.edu.pl

Największym odkryciem ubiegłego wieku było wprowadzenie do terapii i lecznictwa człowieka oraz zwierząt antybiotyków. Miały one na celu ratowanie życia i ochronę zdrowia. Jednak z biegiem czasu zauważono rozprzestrzenienie się oporności na różne grupy antybiotyków, będące wynikiem m.in. zbyt często stosowania antybiotyków głównie w medycynie i weterynarii. Nanosrebro jest to środek powszechnie użytkowany w różnego rodzaju technologiach, lecz swoje zastosowanie odnalazło przede wszystkim w medycynie jako środki opatrunkowe na rany pooparzeniowe czy jako środek grzybobójczy i bakteriobójczy. Ze względu na znaczną oporność bakterii z rodz. *Enterococcu*s celem pracy była ocena bójczego działania cząstek nanosrebra. Na podstawie przeprowadzonych badań na różnych szczepach bakterii *Enterococcus* dwóch gatunków to jest *Enterococcus faecium* oraz *Enterococcus faecalis* stwierdzono, że zastosowanie różnych preparatów handlowych nanosrebra miało zróżnicowane działanie na ich wzrost i rozwój zależne od jego stężania i rodzaju produktu. Silnie hamujące działanie wykazał preparat firmy Silveco.

Combating bacteria of the genus *Enterococcus* with preparations containing silver nanoparticles

The greatest discovery of the last century was the introduction to therapy and treatment of human and animal antibiotics. They were aimed at saving lives and protecting health. However, over time, the spread of resistance to various groups of antibiotics was noted, being the result of, among others, the use of antibiotics too often mainly in medicine and veterinary medicine. Nanosilver is a medium commonly used in various types of technologies, but it has found its application primarily in medicine as dressings or as a fungicide and bactericide. Due to the high resistance of bacteria from the genus *Enterococcus's* goal was to assess the action of nanosilver particles.Based on the research conducted on different strains of *Enterococcus* bacteria, two species is *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*, it was found that the use of various commercial preparations of nanosilver had a different effect on their growth and development depending on its concentration and product type. The Silveco preparation showed a strongly inhibitory effect.

.

Wzmocnienie pozycji naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Państwowego Instytutu Badawczego w dziedzinie zdrowia zwierząt oraz bezpieczeństwa żywności

Mirosław Polak, Małgorzata Olejnik, Katarzyna Domańska-Blicharz, Ewelina Iwan

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Głównym założeniem projektu VET-TWIN jest zwiększenie potencjału badawczego Państwowego Instytutu Badawczego–Państwowego Instytutu Badawczego (PIWet-PIB) poprzez współpracę z wiodącymi na świecie jednostkami z Niemiec (Federal Institute for Risk Assessment-BfR) i Danii (Technical University of Denmark, National Veterinary Institute; DTU Vet) w celu wzmocnienia pozycji międzynarodowego ośrodka wiodącego w dziedzinie chorób zakaźnych zwierząt, chorób odzwierzęcych i bezpieczeństwa żywności. Cel ten jest realizowany poprzez szereg działań, między innymi poprzez wdrażanie Strategii Współpracy i Rozwoju, interakcję naukowców na poziomie operacyjnym, a także poprzez działania wspomagające wymianę wiedzy i doświadczeń pomiędzy naukowcami. Projekt VET-TWIN w pełni odpowiada celom programu "Horyzont 2020". Podnosi poziom doskonałości naukowej instytutu i jego personelu badawczego, w pełni realizuje szczegółowe wytyczne dotyczące upowszechnianie doskonałości i szerzenia dostępności do wiedzy. Wdrożenie projektu wpisuje się bezpośrednio w koncepcję współpracy w projektach bliźniaczych. Budowa partnerskiej współpracy między wyżej wymienionymi podmiotami stwarza możliwość wymiana wiedzy na poziomie światowym. Zaangażowanie w projekt VET-TWIN dwóch ośrodków naukowych o doskonałej reputacji w międzynarodowym środowisku badawczym, zapobiega zjawisku marginalizowania instytucji z krajów o niższym wskaźniku złożoności w zakresie doskonałości badawczej.

Strengthening of scientific excellence of the National Veterinary Research Institute in animal health and food chain safety

The general objective of the VET-TWIN project is to increase the potential and research capacity of the National Veterinary Research Institute (NVRI) by cooperation with internationally-leading counterparts from Germany (Federal Institute for Risk Assessment-BfR) and Denmark (Technical University of Denmark, National Veterinary Institute; DTU Vet) - to act in an international scientific and research environment as a leading institute in the fields of animal infectious diseases, zoonoses and food chain safety. The objective defined in such a way is accomplished through a number of activities, in particular through the implementation of the Joint Strategy of Cooperation and Development and by the interaction of scientists at the operational level, as well as through activities helping in the exchange of knowledge and experiences among scientists. The VET-TWIN project fully addresses the objectives of the Horizon 2020 programme. Through activities which increase the level of scientific excellence of the institute and its research staff, the project fully implements the specific objective Spreading Excellence and Widening Participation. The Implementation of the project fits directly in with the specific challenge of Twinning. By creating a partnership between the aforementioned entities, it is possible to cooperate and exchange knowledge on an international level. Furthermore, the involvement of two scientific centers of excellent repute in the international research community to the VET-TWIN project, prevent the crowding out effect for an institution from a country with a lower Composite indicator of Research Excellence.

VET-TWIN is supported by the European Union’s Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 692131.

Praktyczne wykorzystanie metataksonomiki do analizy mikrobiomu zwierząt

Ewelina Iwan[1], Aleksandra Giza[1], Arkadiusz Bomba[1], Magdalena Skarżyńska[2], Dariusz Wasyl[1,2]

[1]Zakład Analiz Omicznych, [2]Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy

Metagenomika dostarcza uniwersalne rozwiązanie dla mikrobiologii klinicznej, diagnostyki patogenów w żywności i ochrony zdrowia publicznego. Jednym z często stosowanych podejść metagenomicznych jest analiza metataksonomiczna, opierająca się o amplifikację genu kodującego podjednostkę 16S bakteryjnego rRNA. Zmienne regiony 16S rRNA są wykorzystywane do identyfikacji i filogenetycznej klasyfikacji bakterii. Gen ten może występować w różnych wariantach i różnej liczebności w zależności od składu taksonomicznego obecnej w próbce populacji bakterii. Celem pracy była ocena przydatności badania metatoksonomicznego do analizy mikrobiomu jelitowego zwierząt. W badaniach wykorzystano próbki kału pobrane od świń, dzików oraz bydła. Bibliotekę przygotowano zgodnie z protokołem Illumina 16S Metagenomics. Sekwencjonowanie wykonano z wykorzystaniem MiSeq, dane analizowano za pomocą platformy CosmosID. Wstępne wyniki wskazują na istnienie zależności w obrębie badanych gatunków zwierząt. Mikrobiomy dzików, w porównaniu do zwierząt hodowlanych były bardziej zbalansowane i zróżnicowane pod względem składu gatunkowego, co prawdopodobnie wynika z bardziej różnorodnej diety. Ponadto flora jelitowa dzików charakteryzowała się znacząco większym odsetkiem bakterii z rodziny *Lactobacillaceae* i *Ruminococccaceae*. Mikrobiomy bydła zawierały duże ilości bakterii *Bifidobacteriaceae*, natomiast mikrobiomy świń charakteryzowały się dużym odsetkiem *Clostridiaceae*. Przeprowadzone badania mają charakter wstępny i będą kontynuowane uwzględniając większą liczbę badanych próbek. Jednak już na tym etapie wskazują one na ogromny potencjał i przydatność analiz metataksonomicznych w diagnostyce weterynaryjnej, szczególnie w połączniu z metodami konwencjonalnymi.

Practical application of metataxonomics for analysis of animal microbiome

Metagenomics offers an universal solution for clinical diagnostics, foodborne pathogens detection, and protection of public health. Commonly used metagenomic approach is metataxonomics, based on targeted amplification of a gene encoding for 16S subunit of bacterial rRNS. Variable regions of 16S rRNA are used for phylogenetic classifications of bacteria. Targeted sequence may be present in different variation and copy number across taxa, depending on taxonomic composition of bacterial population in a sample. The aim of this study was to evaluate usefulness of metataxonomics assay for analysis of gut microbiome from different animal species. Faecal samples collected from pigs, wild boars and cattle were used for purpose of this study. Libraries were perpetrated according to Illumina 16S Metagenomics protocol. Sequencing was performed with MiSeq. Results were analysed using CosmosID platform. Preliminary results show pattern in composition of bacterial community across analysed animal species. Microbiomes of wild boars were more balanced and diversified in comparison to those of farm animals, probably due to the more varied diet. Additionally in microbiomes of wild boars higher percentage of *Lactobacillaceae* and *Ruminococcaceae* were shown. Cattle microbiomes exhibited higher representation of *Bifidobacteriaceae,* while swine elevated number of *Clostridiaceae.* The study has a preliminary character and will be continued with a larger number of samples. Already, the study points to the potential application of metataxonomics in veterinary diagnostics, especially in combination with conventional methods.

Analizy taksonomiczne i funkcjonalne metatranskryptomów konsorcjów mikroorganizmów z reaktorów metano- i wodorogennych.

Tomasz Walter, Anna Sikora, Urszula Zielenkiewicz
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa

Jedną z obiecujących technologii pozwalających na otrzymywanie energii ze źródeł odnawialnych jest wykorzystanie beztlenowego rozkładu materii organicznej. Głównymi produktami tych procesów są metan lub wodór. Rozdzielenie etapów prowadzących do wydzielania wodoru i metanu pozwala na optymalizację produkcji obu tych związków.W celu lepszego zrozumienia oraz optymalizacji procesów fermentacji istotne jest lepsze poznanie składu taksonomicznego konsorcjów mikrobiologicznych, a także procesów metabolicznych zachodzących w bioreaktorach. Jednym ze sposobów osiągnięcia tego celu jest wykorzystanie wysokoprzepustowych technologii sekwencjonowania DNA i RNA. Prezentowane dane pochodzą z sekwencjonowania metatranskryptomów z wykorzystaniem sekwenatora Ion Torrent PGM. RNA otrzymano z uprzednio opracowanej instalacji w skali laboratoryjnej w Cukrowni Dobrzelin. Analizie poddano 12 próbek reprezentujących dwa biologiczne (dla reaktorów wytwarzających metan i wodór) oraz trzy techniczne powtórzenia dla każdego reaktora zgodnie z obecnie przyjętymi standardami. Łącznie uzyskano 14 207 113 surowych odczytów. Bioreaktory wytwarzające metan charakteryzowały się około pięciokrotnie większą liczbą przypisanych taksonów i terminów Gene Ontology, wyższą bioróżnorodnością i większymi różnicami między próbkami w zakresie taksonomii.Wyniki dają wgląd w procesy zachodzące w badanym dwustopniowym systemie. Na chwilę obecną około 2/3 kontigów zostało przypisanych do taksonów, ale tylko około 10% zostało przypisanych do ich funkcji. Dlatego potrzebne są dalsze analizy danych w celu zbadania profilu funkcjonalnego badanych konsorcjów drobnoustrojów. Istnieje również potrzeba zintegrowania uzyskanych wyników z innymi podejściami omicznymi, takimi jak metagenomika, metaproteomika i metabolomika.

Taxonomic and functional analysis of the methane- and hydrogen-yielding reactors RNA-Seq data.

One of the promising techniques in terms of methods for the production of energy from renewable sources is anaerobic digestion of organic matter. It generates methane or hydrogen as the main products. The separation of the hydrogen- and methane-yielding steps allows for optimization of those compounds production from biomass.There is the need to investigate the taxonomic composition of microbial consortia as well as the metabolic processes which take place in bioreactors. This can lead to better comprehension and optimization of the fermentation processes. One of the ways of achieving this goal is utilization of high-throughput next generation sequencing technologies. Here, we report the metatranscriptome data generated by the Ion Torrent PGM sequencer. The RNA was obtained from the previously developed large laboratory scale installation in the Dobrzelin Sugar Factory (Poland). In total, 14,207,113 raw reads representing 12 samples were obtained. Samples represent two biological (for each methane- and hydrogen-yielding reactors) and three technical repetitions in accordance with currently accepted standards.Methane-yielding bioreactors were characterized by approximately five times higher number of assigned taxa and Gene Ontology therms, higher biodiveristy and greater differences between samples in terms of taxonomic analysis.The results provide an insight into the processes that takes place in the studied two-stage system. For now, about 2/3 of contigs were assigned to taxa but only about 10% were assigned to its function. Therefore, further analyses of the data are needed to investigate the functional profile of studied microbial consortia. There is also the need to integrate obtained results with other omics approaches, such as metagenomics, metaproteomics and metabolomics.

Różnorodność genetyczna mikroorganizmów w glebach zdegradowanych, nawożonych nawozami mineralnymi wzbogaconymi mikrobiologicznie – założenia i metodyka badań

Agata Gryta, Magdalena Frąc, Karolina Oszust, Giorgia Pertile

Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk w Lublinie, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Różnorodność mikroorganizmów glebowych odpowiada za właściwe funkcjonowanie ekosystemu glebowego, wpływając na strukturę oraz właściwości gleby. Występujące w glebie mikroorganizmy (bakterie, grzyby oraz archeony) uczestniczą w obiegu pierwiastków chemicznych, przyczyniają się do rozkładu materii organicznej oraz są odpowiedzialne za uwalnianie związków odżywczych dla roślin dostarczonych do gleby w postaci nawozów. Mikroorganizmy niehodowalne (VBNC) mogą stanowić nawet 95% drobnoustrojów występujących w środowisku glebowym. Metody molekularne, w przeciwieństwie do tradycyjnych technik mikrobiologicznych, umożliwiają badanie tej grupy mikroorganizmów poprzez analizę genomowego DNA wyizolowanego z gleby. Jedną z powszechnie stosowanych metod umożliwiających określenie różnorodności genetycznej mikroorganizmów w danym środowisku jest analiza polimorfizmu długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych (t-RFLP). Jest to czuła, wiarygodna i powtarzalna metoda fingerprintingowa. Startery wykorzystywane w reakcji PCR są znakowane fluorescencyjnie dzięki czemu możliwy jest odczyt fragmentów restrykcyjnych w sposób automatyczny w analizatorze genetycznym. Podczas analizy rozpoznawane są jedynie fragmenty oznakowane fluorescencyjnie, widoczne w formie „pików" na elektroforogramie. Każdy fragment, o określonej długości (wyrażonej w parach zasad) reprezentuje odrębną operacyjną jednostkę taksonomiczną (operational taxonomic unit, OTU). Zastosowanie metody t-RFLP w zależności od specyficzności wybranych starterów umożliwia analizę różnorodności genetycznej zbiorowisk mikroorganizmów w glebach uprawianych rolniczo oraz obserwację zmian zachodzących pod wpływem stosowania nawozów wzbogacanych mikrobiologicznie.

Genetic diversity of microorganisms in degraded soil amended with microbiologically enriched mineral fertilizers – general concepts and methodology

The diveristy of soil microorganisms is responsible for proper functioning of the soil ecosystem. Soil microorganisms (bacteria, fungi and archaea) participate in the circulation of chemical elements, contribute to the decomposition of organic matter and are responsible for the release of nutrients for plants from fertilizers applied into the soil. Microorganisms viable but non culturable can account for up to 95% of soil microorganisms. Molecular methods, unlike traditional microbiological techniques, allow the study of this group of microorganisms by analyzing the genomic DNA isolated from the soil. One of the commonly used methods for determining the genetic diversity of microorganisms is the terminal restriction fragment length polymorphism (t-RFLP) analysis. It is a sensitive, reliable and repeatable fingerprinting method. The primers used in the PCR are fluorescently labeled therefore the restriction fragments can be read automatically in the genetic analyzer. During the analysis only fluorescently labeled fragments are recognized, visible in the pattern of peaks on the electropherogram. Each fragment of a specific length (expressed in base pairs) represents a separate operational taxonomic unit (OTU). Application of the t-RFLP method depending on the specificity of selected primers enables analysis of the genetic diversity of microbial communities in agricultural soils and observation of changes occurring under the influence of microbiologically enriched fertilizers.

This abstract was financed by The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017.

Polimery ścianowe, wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe endofitycznych szczepów *F. culmorum* posiadających genetyczne determinanty (Tri5) syntezy trichotecenów chemotypu DON

Artur Nowak, Dariusz Lenart, Renata Tyśkiewicz, Anna Słomka, Ewa Ozimek, Małgorzata Majewska, Jolanta Jaroszuk-Ściseł

Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Patogeniczny szczep *Fusarium culmorum* FC37 jak i niepatogeniczne ryzosferowe szczepy FC2 i FC5 (odpowiednio, promujący i hamujący wzrost roślin zbożowych) są potencjalnie zdolne do syntezy trichotecenów, gdyż wykryto u nich gen Tri5 kodujący syntazę trichodienu, natomiast nie posiadają genu Tri7, co świadczy o ich przynależności do chemotypu deoksyniwalenolu (DON). Patogen silniej kolonizował tkanki pszenicy i żyta niż pozostałe szczepy i tylko przy kolonizacji szczepem FC37 wykrywano w tych tkankach toksynę DON. Możliwe, że stopień kolonizacji, synteza DON oraz typ oddziaływania szczepów *F. culmorum* uzależniony jest od stężenia i typu polimerów wytwarzanych przez te szczepy. Ze względu na miejscu tworzenia i występowania w komórce wyróżnia się polimery ścianowe (WPS-wall), wewnątrz- (IPS-intra-) i zewnątrz-(EPS-extra-) komórkowe. Porównano poziom IPS, WPS i EPS wytwarzanych w 3-dniowych hodowlach szczepów *F. culmorum* na podłożu Czapek-Dox w temperaturze 20°C. EPS wytrącano z płynu pohodowlanego 96% etanolem, IPS uzyskano poprzez gotowanie grzybni przez 6h i strącanie etanolem, a WPS przez 48h ekstrakcję 1M NaOH. Zaobserwowano znaczące różnice w stężeniu polimerów wytwarzanych przez poszczególne szczepy sugerujące znaczenie EPS i WPS w kształtowaniu interakcji z rośliną. Szczep FC2 wytwarzał najmniej a FC37 najwięcej EPS, odpowiednio, 15, 29 i 40 mg g^{-1} suchej masy grzybni. Stężenie WPS szczepu FC2 było zbliżone, a szczepu FC5 i FC37 odpowiednio 2- i 3-krotnie niższe niż stężenie EPS. Natomiast stężenie IPS szczepu FC2 było najwyższe a stężenie IPS (FC37) patogena najniższe.

Wall , intra and extracellular polymers in endophytic strains of *F. culmorum* with genetic determinants (Tri5) of the synthesis of DON chemotype trichothecenes

The pathogenic strain *Fusarium culmorum* FC37 as well as non-pathogenic rhizosphere strains FC2 and FC5 (respectively, promoting and inhibiting cereal plant growth) are potentially able to synthesize trichothecenes, because they have the Tri5 gene encoding for trichodiene synthase but do not have the Tri7 gene, which indicates that they belong to the deoxynivalenol (DON) chemotype. The pathogen colonized wheat and rye tissues more strongly than the other strains, and the DON toxin was detected in these tissues only in colonization with the FC37 strain. It is possible that the degree of colonization, DON synthesis, and the type of interaction of *F. culmorum* strains depends on the concentration and type of polymers produced by these strains. Due to the site of formation and occurrence in the cell, wall (WPS), intra- (IPS), and extracellular (EPS) polymers are distinguished. The levels of IPS, WPS, and EPS of *F. culmorum* strains were compared for 3-day-old cultures on Czapek-Dox medium at 20°C. EPS was precipitated from the culture fluid with 96% ethanol, IPS was obtained by boiling mycelia for 6h and ethanol precipitation, and WPS by 48h extraction with 1M NaOH. There were significant differences in the concentration of polymers produced by individual strains, indicating the particular importance of EPS and WPS in shaping the *F. culmorum* interaction with the plant. The FC2 and FC37 strains produced the least and the most EPS, respectively, i.e. 15, 29, and 40 mg g^{-1} dry weight of mycelium. The concentration of WPS was similar in strain FC2 and 2- and 3-times lower in strains FC5 and FC37 than the concentration of EPS. In contrast, the concentration of FC2 strain IPS was the highest and the concentration of pathogen's (FC37 strain) IPS was the lowest.

This study was financially supported by the project BS-P-11-010-18-2-07 (2018)

Porównanie profili fizjologicznych Biolog i tempa wzrostu fitopatologicznych szczepów *Fusarium* i mykopasożytniczych szczepów *Trichoderma* zakwalifikowanych do różnych gatunków na podstawie analiz morfologicznych i sekwencji rRNA

Renata Tyśkiewicz[1], Aleksandra Kopińska[1], Artur Nowak[1], Grzegorz Janusz[2], Anna Pawlik[2], Ewa Ozimek[1], Małgorzata Majewska[1], Jolanta Jaroszuk-Ściseł[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, [2]Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Grzyby strzępkowe posiadają unikalne szlaki metaboliczne, które pozwalają im na przyswajanie prostych jak również złożonych składników odżywczych dostępnych w różnych niszach ekologicznych. Unikalność morfologiczna i biochemiczna tych mikroorganizmów jest powszechnie wykorzystywana w systemie Biolog-FF w celu ich szybkiej identyfikacji a także charakterystyki metabolicznej na podstawie wykorzystania zróżnicowanych źródeł węgla. Celem przeprowadzonych badań było porównanie profili fizjologicznych uzyskanych za pomocą testu Biolog-FF MicroPlate™ oraz tempa wzrostu fitopatogenicznego szczepu *Fusarium culmorum* FC37 i mykopasożytniczych szczepów *Trichoderma*: *T. koningiopsis* (TK3Ag0, TKEPSK356) oraz *T. velutinum* (TVEPF48). Najwyższą aktywność metaboliczną uzyskano w 144 godzinie inkubacji, przy czym zaobserwowano znaczne różnice w intensywności oraz ilości wykorzystanych substratów węglowych przez badane szczepy. Indeks aktywności metabolicznej AWCD (ang. *Average Well Colour Development*) fitopatogenicznego szczepu FC37 wynosił 0,57 i był niemal 2 razy wyższy niż AWCD mykopasożytów *Trichoderma*. Szczep FC37 intensywniej wykorzystywał substraty węglowe z grupy kwasów karboksylowych oraz aminokwasy, natomiast szczepy niepatogeniczne węglowodany proste. Wartość współczynnika tempa wzrostu grzybni (R) dla badanych szczepów rosnących na dwóch stałych minimalnych podłożach, w których główne źródło węgla stanowiła glukoza lub sacharoza, była kilkunastokrotnie wyższa dla mykopasożytów *Trichoderma* (746-2103 jednostek R) w porównaniu ze szczepem FC37 (35-188 jednostek R).

Comparison of Biolog physiological profiles and growth rates of phytopathological profiles and growth rates of phytopatological *Fusarium* strains and mycoparasitic *Trichoderma* strains classified to different species based on morphological analyses and rRNA sequences

Filamentous fungi have unique metabolic pathways that allow them to assimilate simple as well as complex nutrients available in various ecological niches. The morphological and biochemical uniqueness of these microorganisms is widely used in the Biolog-FF system for their rapid identification and metabolic characterization based on the use of diversified carbon sources. The aim of the study was to compare the physiological profiles obtained with the Biolog-FF MicroPlateTM test and the growth rate of phytopathogenic *Fusarium culmorum* FC37 and mycoparasitic *Trichoderma* strains: *T. koningiopsis* (TK3Ag0, TKEPSK356) and *T. velutinum* (TVEPF48). The highest metabolic activity was obtained at 144 hours of incubation, with significant differences in the intensity and amount of carbon substrates used by the tested strains. The index of the metabolic activity of AWCD (*Average Well Color Development*) of the phytopathogenic strain FC37 was 0.57, which was almost 2 times higher than the AWCD of *Trichoderma* mycoparasites. The FC37 strain used carbon substrates from the group of carboxylic acids and amino acids more intensively, while the non-pathogenic strains utilized more carbohydrates. The value of the coefficient of mycelium growth rate (R) for the tested strains growing on two solid minimal media, in which glucose or sucrose were the main carbon source, was several times higher for *Trichoderma* mycoparasites (746-2103 R units) in comparison with the FC37 strain (35-188 units R).

This study was financially supported by the project BS-P-11-010-18-2-07 (2018)

Analiza metagenomiczna w ocenie bioróżnorodności mikroflory zasiedlającej aleucką parkę z kolekcji syberyjskiej Muzeum Etnograficznego w Krakowie

Tomasz Lech[1], Anna Otlewska[2], Jacek Kukuczka[3]

[1]Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie;[2]Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka;[3]Muzeum Etnograficzne w Krakowie

W Muzeum Etnograficznym w Krakowie, pośród ponad 9000 obiektów z obszarów pozaeuropejskich, znajduje się historyczna kolekcja syberyjska, którą tworzą w większości XIX-wieczne przedmioty pochodzące z zapolarnych, północnych obszarów Rosji, Syberii i dalekich, północno – wschodnich regionów tego kraju. Jednym z wyjątkowych obiektów jest jedyna w Polsce aleucka parka, która jest rzadkością również w światowych kolekcjach etnograficznych. Parka to wielofunkcyjne, ochronne okrycie wierzchnie wykonane ze skórek (skalpów) ptasich. Współczesne, interdyscyplinarne podejście i nowa, antropologiczna perspektywa pozwalają na opracowanie kolekcji syberyjskiej z zastosowaniem wielu metodologii badawczych. W niniejszych badaniach wykorzystano metody metagenomiczne w ocenie bioróżnorodności mikroorganizmów kolonizujących niniejszy unikatowy obiekt. W badanej próbce pobranej z parki aleuckiej, dominowały bakterie należące do klasy *Firmicutes* (70,3%), wśród których zidentyfikowano głównie rodzaje *Bacillus, Sporosarcina, Lysinibacillus* i *Staphylococcus*. Klasy *Proteobacteria* i *Actinobacteria* stanowiły odpowiednio 17,4 i 11,9% całej puli OTU i były reprezentowane przez rodzaje *Acinetobacter* i *Roseomonas* oraz *Micrococcus* i *Dermacoccus*. Najwyższy udział procentowy wśród grzybów stwierdzono dla klasy *Eurotiomycetes* (82,2%). Wśród tej klasy dominowały *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. i *Bysochlamys* sp. Klasy *Agaricomycetes* i *Dothideomycetes* obejmowały odpowiednio 8,3% i 6,5% OTU zidentyfikowanych w tej próbce.

Metagenomic analysis in the assessment of microflora biodiversity of the Aleutian fur from the collection of the Siberian Ethnographic Museum in Krakow

In the Ethnographic Museum in Krakow, among more than 9,000 objects from non-European areas, there is a historical Siberian collection, which is composed mostly of nineteenth century objects from the northern regions of Russia, Siberia and the far north-eastern regions of this country. One of the most unique objects is the only in Poland Aleutian fur (parka), which is also a rarity in the world's ethnographic collections. Parka is a multifunctional, protective outerwear made of bird skins (scalps). A contemporary, interdisciplinary approach and a new, anthropological perspective allow for wide investigation of Siberian collection using many research methodologies. In the present study, metagenomic methods were used to assess the biodiversity of microbial contamination of this unique object. The sample taken from Aleutian fur, was dominated by bacteria belonging to the class of *Firmicutes* (70.3%) among of which have been identified mainly of *Bacillus, Sporosarcina, Lysinibacillus* and *Staphylococcus*. The *Proteobacteria* and *Actinobacteria* classes accounted for 17.4 and 11.9% of the OTUs pool, respectively, and were represented by genera: *Acinetobacter* and *Roseomonas, Micrococcus* and *Dermacoccus*. The highest percentage of fungi contribution was found for the *Eurotiomycetes* class (82.2%). Among this phylum *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. and *Bysochlamys* sp. were predominant. Moreover, the class of *Agaricomycetes* and *Dothideomycetes* covered 8.3% and 6.5% OTUs identified in this sample.

Identyfikacja bakterii glebowych z rodzaju *Bacillus* jako komponentów biostymulatora na bazie kwasów humusowych

Anna Lisek, Paweł Trzciński, Lidia Sas Paszt
Instytut Ogrodnictwa
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

Rozwój i zastosowanie w praktyce rolniczej biostymulatorów i bionawozów zawierających żywe mikroorganizmy zyskuje ostatnio na znaczeniu z powodu stwierdzonego szkodliwego oddziaływania na zdrowie konsumentów i środowisko chemicznych środków produkcji roślin. Celem badań była identyfikacja szczepów rodzimych bakterii z rodzaju *Bacillus*, o działaniu biostymulujacym, przeznaczonych do mikrobiologicznego wzbogacania biostymulatora na bazie kwasów humusowych. Do identyfikacji szczepów bakterii zastosowano techniki PCR-RFLP, rep-PCR, analizę sekwencji genów warunkujących podstawowe funkcje komórki: *rpo*B, *gyr*A, *rec*A, *tuf*, *pur*H oraz *gro*EL oraz PCR z użyciem starterów specyficznych dla 7 gatunków bakterii *Bacillus.* Identyfikacja biochemiczna izolatów bakterii z zastosowaniem systemu BIOLOG wskazuje na ich działanie biostymulujące i ochronne dla roślin. Stwierdzono przynależność testowanych izolatów do gatunków *Bacillus velezensis* oraz *Bacillus amyloliquefaciens*. Wykazano korzystny wpływ tych dwóch gatunków bakterii z rodzaju *Bacillus* na wzrost i plonowanie roślin oraz ich adaptację do niekorzystnych warunków suszy i wysokich temperatur. Z powodu biostymulującego działania tych bakterii zastosowano je do mikrobiologicznego wzbogacenia kwasów humusowych. Nowo opracowany biostymulator na bazie kwasów humusowych wzbogacony mikrobiologicznie wdrożony będzie w uprawach ekologicznych oraz w produkcji integrowanej roślin ogrodniczych. Powszechne stosowanie biostymulatora na bazie kwasów humusowych wpłynie na poprawę jakości produkowanych plonów o walory prozdrowotne oraz ograniczy lub wyeliminuje stosowanie chemicznych środków produkcji roślin.

Identification of soil bacteria of the genus *Bacillus* as components of a biostimulant based on humic acids

The development and application in agricultural practice of biostimulants and biofertilizers containing live microorganisms has recently become more important because of the identified harmful effects of chemical means of plant production on the health of consumers and the environment. The aim of the research was to identify strains of native bacteria of the genus *Bacillus*, with a biostimulating effect, intended for microbial enrichment of a biostimulant based on humic acids. The techniques used to identify the bacterial strains included PCR-RFLP, rep-PCR, sequence analysis of the genes encoding the basic cell functions: *rpo*B, *gyr*A, *rec*A, *tuf*, *pur*H and *gro*EL, and PCR using primers specific for the 7 bacterial *Bacillus* species. Biochemical identification of the bacterial isolates by means of the BIOLOG system indicates their biostimulating and protective effects on plants. The tested isolates were found to belong to the species *Bacillus velezensis* and *Bacillus amyloliquefaciens*. The beneficial effect of these two bacterial species of the genus *Bacillus* on the growth and yielding of plants and their adaptation to unfavourable drought conditions and high temperatures had been demonstrated. Because of the biostimulating effect of these bacteria, they were used for the microbial enrichment of humic acids. The newly developed microbially enriched biostimulant based on humic acids will be implemented in organic crops and in the integrated production of horticultural plants. Widespread use of the biostimulant based on humic acids will improve the quality of crops with health-enhancing features and will reduce or eliminate the use of chemical means of plant production.

Molekularna taksonomia i filogeneza fruktofilnych bakterii mlekowych wyizolowanych z przewodu pokarmowego pszczoły miodnej (*Apis mellifera*)

Artur Pachla[1], Magdalena Wicha[1], Aneta Agnieszka Ptaszyńska[2], Grzegorz Borsuk[3], Mirosław Grzęda[1], Łucja Łaniewska-Trokenheim[4], Wanda Małek[5]

[1]Biowet Puławy Sp. z o.o , Puławy; [2]Zakład Botaniki i Mykologii, Uniwersytet M. Curie-Skłodowskiej w Lublinie; [3]Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie; [4]Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności, Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie; [5]Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet M. Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Fruktofilne baterie mlekowe (FLAB) są mikroorganizmami powszechnie występującymi w winie, kwiatach i przewodzie pokarmowym niektórych owadów włączając pszczoły miodne (*Apis mellifera*). W celu określenia filogenezy i pozycji taksonomicznej fruktofilnych bakterii mlekowych, wyizolowanych z przewodu pokarmowego *Apis mellifera*, została przeprowadzona analiza sekwencji genów kodujących 16S rRNA i *recA*. Na filogramie skonstruowanym w oparciu o sekwencje 16S rDNA, 85,7% szczepów badanych zgrupowało się razem z referencyjnymi bakteriami *Lactobacillus kunkeei* (identyczność sekwencji nukleotydowych 99,6-100%), a 14,3% szczepów wyizolowanych utworzyło wspólne grono ze szczepami należącymi do gatunku *Fructobacillus fructosus* (podobieństwo sekwencji nukleotydowych 99,9%). Pokrewieństwo badanych bakterii z referencyjnymi bakteriami mlekowymi oparte na analizie sekwencji 16S rDNA zostało potwierdzone porównawczą analizą sekwencji genu *recA* badanych symbiontów pszczoły miodnej. Na filogramie genu *recA* fruktofilne bakterie mlekowe tworzące na drzewie 16S rDNA monofiletyczny klad z *L. kunkeei* szczepami, zgrupowały się także z bakteriami *L. kunkeei* (identyczność sekwencji nukleotydowych 98,5-100%). Pozostałe badane izolaty, blisko spokrewnione ze szczepami *F. fructosus* (w oparciu o analizę sekwencji 16S rDNA) utworzyły również na filogramie genu *recA* wspólne grono z reprezentantami *F. fructosus* (99,3-100% identycznych sekwencji nukleotydowych). W oparciu o uzyskane dane, badane fruktofilne bakterie mlekowe będące symbiontami *Apis mellifera* zostały sklasyfikowane do dwóch gatunków, tj. *Lactobacillus kunkeei* (12 szczepów) i *Fructobacillus fructosus* (2 szczepy).

Molecular taxonomy and phylogeny of fructofilic lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* (honeybee) guts

Fructofilic lacic acid bacteria (FLAB) are microorganisms commonly found in wine, flowers, and guts of several insects including honeybees, which diet is rich in fructose. For determination of phylogeny and taxonomic position of fructofilic lactic acid bacteria, isolated from the intestinal tract of *Apis mellifera*, 16S rRNA and *recA* genes sequence analysis was carried out. On the 16S rDNA phylogram, 85,7% strains studied clustered together with *Lactobacillus kunkeei* reference bacteria (99,6-100% nucleotide identity) and 14,3% strains isolated grouped with *Fructobacillus fructosus* reference strains (99,9% identical nucleotides). The results based on 16S rRNA gene sequence analysis were confirmed by comparative sequence analysis of *recA* gene. In the *recA* gene phylogram, fructofilic lacic acid bacteria, forming in 16S rDNA tree monophyletic clade with *L. kunkeei,* clustered also with *L. kunkeei* (98,5-100% invariant nucleotides), whereas remaining isolates studied, closely related to *F. fructosus* bacteria by 16S rDNA sequence analysis, formed also in *recA* gene phylogram robust cluster with *F. fructosus* strains (99,3-100% identical nucleotides). Presented data demonstrate that studied honeybee gut residents belong to *L. kunkeei* (12 strains) and *F. fructosus* species (2 strains).

Zbiorowiska grzybów i bakterii w glebie spod uprawy marchwi (*Daucus carota* L.)

Elżbieta Patkowska

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Katedra Ochrony Roślin, Zakład Fitopatologii i Mykologii

Skład populacji mikroorganizmów glebowych zależy od wielu czynników, m.in. od gatunku międzyplonowych roślin okrywowych. Rośliny te pełnią ważną rolę ochronną i konserwującą w uprawie warzyw korzeniowych. Do mulczowania gleby wykorzystuje się owies, żyto, gorczycę białą, facelię błękitną, grykę, wykę siewną, rzodkiew oleistą, słonecznik i mieszanki roślin strączkowych. Międzyplonowe rośliny okrywowe odpowiednio modyfikują skład zbiorowisk mikroorganizmów glebowych i mogą przyczynić się do ograniczenia występowania grzybów chorobotwórczych. Celem badań było określenie składu populacji drobnoustrojów glebowych w uprawie marchwi z uwzględnieniem różnego sposobu uprawy roli oraz wykorzystaniem facelii błękitnej, wyki siewnej i owsa jako międzyplonowych roślin okrywowych. Ogólna liczebność bakterii wahała się od 3,55 x 10^6 do 10,98 x 10^6 jtk. w 1g s.m. gleby. Wykorzystanie owsa i wyki siewnej, jako roślin okrywowych w uprawie marchwi, wpłynęło korzystnie na liczebność bakterii z rodzajów *Bacillus* i *Pseudomonas* w glebie. Najwięcej bakterii ogółem wystąpiło w 1g s.m. gleby pochodzącej z kombinacji doświadczenia, gdzie rośliną okrywową był owies. Najwięcej grzybów ogółem stwierdzono w 1g s.m. gleby kontrolnej, tj. uprawianej bez rośliny okrywowej. System uprawy nie miał istotnego wpływu na liczebność bakterii i grzybów w glebie. Skład gatunkowy grzybów wyizolowanych z gleby poszczególnych kombinacji doświadczenia był zróżnicowany. Spośród grzybów uznawanych za patogeniczne izolowano gatunki z rodzajów *Alternaria, Fusarium*, *Pythium, Rhizoctonia* i *Sclerotinia.* Dominującym okazał się *Fusarium oxysporum*. Najwięcej izolatów wymienionych grzybów wyosobniono z gleby uprawianej tradycyjnie oraz po mulczu z roślin facelii błękitnej

Fungal and bacterial communities in the soil under the cultivation of carrot (*Daucus carota* L.)

The composition of populations of soil microorganisms depends on a number of factors, for example the species of intercrop ground cover plants. These plants play an important role in protecting and preserving root vegetables. Oat, rye, white mustard, tansy phacelia, buckwheat, spring vetch, oil radish, sunflower and mixtures of pulses are used in mulching the soil. Intercrop ground cover plants properly modify the composition of soil microorganisms and can contribute to limited occurrence of pathogenic fungi. The purpose of the studies was to establish the composition of the populations of soil microorganisms in the cultivation of carrot considering different manners of soil cultivation and with the use of tansy phacelia, spring vetch and oat as intercrop ground cover crops. The total population of bacteria ranged from 3.55 x 10^6 to 10.98 x 10^6 cfu in 1g of soil d.w. The use of oats and spring vetch as cover crops in the cultivation of carrot had a positive effect on the population of bacteria from the genera of *Bacillus* and *Pseudomonas* in the soil. The greatest population of total bacteria occurred in 1g of soil d.w. from the experimental combination where oats was the cover crops. The system of cultivation had no significant effect on the population of bacteria and fungi in the soil. The most total fungi was observed in 1g d.w. of the control soil, i.e. cultivated without any cover plant. The species composition of fungi isolated from the soil of particular experimental combinations was varied. Among the fungi considered to be pathogenic, species from the genera of *Alternaria, Fusarium*, *Pythium, Rhizoctonia* and *Sclerotinia* were isolated. *Fusarium oxysporum* proved to be the dominating one. The largest number of isolates of the enumerated fungi were isolated from the conventionally cultivated soil and after the mulch of tansy phacelia plants.

Zróżnicowanie genetyczne szczepów gatunku *Fusarium oxysporum* przy użyciu metody MP-PCR

Agnieszka Jamiołkowska[1], Elżbieta Patkowska[1] , Ali Hamood Thanoon[1,2]
[1]Katedra Ochrony Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Polska
[2]Wydział Rolnictwa i Leśnictwa, Uniwersytet w Mosulu, Irak

Ocenę zróżnicowania genetycznego izolatów *Fusarium oxysporum* przeprowadzono w 2016 r. Pięćdziesiąt sześć izolatów tego grzyba pochodziło z badań własnych (izolaty z liści, łodyg, korzeni i gleby ryzosferowej pomidora), a osiem izolatów referencyjnych otrzymano z Banku Patogenów Roślin IOR Poznań (izolaty z ziemniaka z Polski i pomidora z Francji, Izraela i Holandii). Badanie analizy polimorfizmu DNA przeprowadzono metodą MP-PCR (Malting Profiles PCR). Genomowy DNA *F. oxysporum* wyizolowano z kultur jednozarodnikowych hodowanych na agarze glukozowo-ziemniaczanym (PDA Difco). Podobieństwo genetyczne pomiędzy izolatami oszacowano zgodnie ze wzorem Dice. Na podstawie polimorfizmu produktów DNA opracowano wskaźnik podobieństwa (SI) i dendrogram UPGMA. Wśród badanych szczepów *F. oxysporum* wydzielono osiem głównych skupień. Najliczniejsze dwie grupy obejmowały po 11 izolatów, a najmniej liczna 2 izolaty. Szczepy referencyjne uzyskane z BPR grupowały się w zależności od rodzaju rośliny żywicielskiej i różniły się od izolatów rodzimych. Izolat referencyjny 2026 pochodzący z Francji (z pomidora), znajdował się poza obrębem wszystkich innych grup, wykazując najmniejsze podobieństwo względem pozostałych szczepów. Średni wskaźnik podobieństwa dla wszystkich badanych izolatów wynosił 0,780. W obrębie populacji *F. oxysporum* stwierdzono wysoki stopień zróżnicowania genetycznego, a duża różnorodność genetyczna badanych izolatów nie zależała od miejsca ich pochodzenia i rodzaju rośliny żywicielskiej.

Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* strains using the MP-PCR method

The analysis of genetic diversity of *Fusarium oxysporum* species was made in 2016. Fifty-six isolates of this fungus were obtained as a result of own research conducted in 2015-2016 (isolates from leaves, stems, roots of tomato and rhizosphere), and eight reference isolates obtained from the Plant Pathogens Bank of Institute of Plant Protection in Poznań (isolates from potato from Poland and tomato plants from France, Israel and the Netherlands).The study was based on analysis of DNA polymorphism using MP-PCR (Malting Profiles PCR). The genomic DNA of *F. oxysporum* was isolated from one-spores cultures grown on potato glucose agar (PDA Difco). The genetic similarity between all isolates was estimated according to the Dice formula. The resulting polymorphism of DNA products has been used to create a similarity index (SI) and construction of the UPGMA dendrogram. Among the studied strains of *F. oxysporum*, eight main clusters were isolated. The most numerous two groups included 11 isolates each of them. The smallest cluster included only 2 strains. Reference strains obtained from the BPP were grouped depending on the type of host plant from which they were isolated and they differed from others own isolates. Reference isolate 2026 from France, isolated from tomato plants, was outside all other groups and had the smallest similarity to other studied strains.

The average SI for all tested isolates was 0.780. Within the *F. oxysporum* population, a high degree of genetic diversity was found, and the large genetic diversity of the studied isolates did not depend on the place of their origin and type of host plant..

Zróżnicowanie taksonomiczne grzybów endofitycznych roślin wrzosu zwyczajnego *Calluna vulgaris* L. Hull

Lidia Sas Paszt, Anna Lisek, Edyta Derkowska, Beata Sumorok, Paweł Trzciński

Instytut Ogrodnictwa
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

Opracowanie bioproduktów wzbogaconych mikrobiologicznie, przeznaczonych do uprawy roślin z rodziny wrzosowatych (*Ericaceae* Juss.) wymaga izolacji i identyfikacji pożytecznych mikroorganizmów wpływających korzystnie na wzrost i plonowanie roślin. Celem badań była identyfikacja 30 endofitycznych izolatów grzybów pozyskanych z korzeni roślin wrzosu zwyczajnego (*Calluna vulgaris* L. Hull). Identyfikację przeprowadzono w oparciu o analizę sekwencji regionu ITS genu rybosomalnego. Zidentyfikowano izolaty grzybów endofitycznych roślin wrzosu zwyczajnego do rodzajów *Phialocephala, Trichoderma, Mycena, Paraconiothyrium, Varicosporium, Mortierella, Chaetomium, Cystodendron, Mucor, Penicillium, Byssochlamys oraz Fusarium.* Określono przynależność wyizolowanych grzybów do gatunków *Phialocephala fortinii* (6 izolatów), *Mycena galopus* (1 izolat), *Trichoderma* sp., (1 izolat) oraz *Paraconiothyrium* sp. (4 izolaty). Wstępne testy przeprowadzone na roślinach wrzosu zwyczajnego wskazują na możliwość zastosowania w uprawie roślin kwasolubnych 12 izolatów grzybów endofitycznych z rodziny wrzosowatych zasiedlających korzenie wrzosu zwyczajnego (*Calluna vulgaris* L. Hull). W celu potwierdzenia przydatności tych izolatów grzybów w uprawie roślin kwasolubnych niezbędne jest przeprowadzenie doświadczeń polowych nad ich wpływem na wzrost i plonowanie kwasolubnych roślin ogrodniczych, takich jak borówka wysoka, żurawina wielkoowocowa, różanecznik, wrzos oraz wrzosiec.

Taxonomic differentiation of endophytic fungi of common heather *Calluna vulgaris* L. Hull

The development of microbially enriched bioproducts intended for the cultivation of plants of the heather family (*Ericaceae* Juss.) requires the isolation and identification of beneficial microorganisms that favourably affect the growth and yielding of plants. The aim of the study was to identify 30 endophytic fungal isolates obtained from the roots of heather plants (*Calluna vulgaris* L. Hull). The identification was performed based on sequence analysis of the ITS region of the ribosomal gene. The isolates of endophytic fungi of heather plants were identified to the genera *Phialocephala, Trichoderma, Mycena, Paraconiothyrium, Varicosporium, Mortierella, Chaetomium, Cystodendron, Mucor, Penicillium, Byssochlamys* and *Fusarium*. The isolated fungi were found to belong to the species *Phialocephala fortinii* (6 isolates), *Mycena galopus* (1 isolate), *Trichoderma* sp. (1 isolate) and *Paraconiothyrium* sp. (4 isolates). Preliminary tests performed on heather plants indicate the possibility of using 12 isolates of endophytic fungi of the heather family inhabiting the roots of common heather (*Calluna vulgaris* L. Hull) in the cultivation of acidophilic plants. In order to confirm the usefulness of these fungal isolates in the cultivation of acidophilic plants, it is necessary to conduct field experiments on their influence on the growth and yielding of acidophilic horticultural plants, such as highbush blueberry, large cranberry, azalea, heather and briar.

Charakterystyka zewnątrzkomórkowej proteazy halotolerancyjnej bakterii *Bacillus pseudofirmus*

Urszula Jankiewicz[1], Paweł Wierzchowski[1], Joanna Grubich[2], Maria Swiontek Brzezinska[2], Agnieszka Kalwasińska[2]

[1]Katedra Biochemii, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
[2]Zakład Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska , Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Proteazy [EC 3.4] to enzymy, zdolne do hydrolitycznej degradacji wiązań peptydowych należą do najliczniejszej grupy wśród enzymów komercyjnych. Ze względu na aspekt aplikacyjny szczególna uwagę poświęca się alkalicznym proteazom o szerokim zakresie specyficzności substratowej i wysokiej optymalnej temperaturze działania, co stwarza praktyczne możliwości zastosowania tych enzymów w detergentach lub w przemyśle spożywczym. Dlatego celem prezentowanych badań było oznaczenie właściwości zewnątrzkomórkowej proteazy syntetyzowanej przez *B. pseudofirmus*. Nasze badania przeprowadzono na, oczyszczonej metodami chromatograficznymi proteazie, uzyskanej z halotolerancyjnej bakterii *Bacillus pseudofirmus*. Bakteria została wyizolowana z składowiska odpadów posodowych w Janikowie. Oznaczenie aktywności proteolitycznej proteazy prowadzono z użyciem azokazeiny jako substratu Na podstawie uzyskanych wyników ustalono optymalne warunki działania badanego enzymu: pH 9,5 oraz temperatura 60°C. Ponadto enzym wykazywał duża stabilność w obecności detergentów: Tween, SDS oraz Triton X-100 jak również 3M NaCl. Omawiana proteaza była wysoce aktywna jedynie w obecności chlorku sodu w próbie. Dalsze badania wykazały ze jest to wysoce termostabilna proteaza serynowa. Uzyskane wyniki wstępne wskazują na duży potencjał aplikacyjny badanego enzymu.

Characterization of extracellular proteases from halotolerant bacteria *Bacillus pseudofirmus*

Proteases [EC 3.4] are enzymes that are capable of hydrolytic degradation of peptide bonds and belong to the largest group among commercial enzymes Due to the application aspect, particular attention is paid to alkaline proteases with a wide range of substrate specificity and high optimal operating temperature, which creates practical application options for these enzymes in detergents or in the food industry Therefore, the aim of the presented studies was to determine the properties of extracellular protease synthesized by *B. pseudofirmus*. Our research was carried out on purified by chromatographic methods protease. *Bacillus pseudofirmus* was obtained from alkaline wastes in Janikowo. Determination of the proteolytic activity of the protease was carried out using azocasein as a substrate. The optimal conditions for the enzyme tested were found: pH 9.5 and temperature 60 ° C. In addition, the enzyme showed high stability in the presence of detergents: Tween, SDS and Triton X-100 as well as 3M NaCl. This protease was highly active only in the presence of sodium chloride in the sample. Further studies showed that it is a highly thermostable serine protease. the points indicate a large application potential of the enzyme.

POSTERY
METAGENOMIKA ŚRODOWISK EKSTREMALNYCH

Różnorodność Proteobacteria w glebie zanieczyszczonej BP Ultimate Diesel z technologią ACTIVE obsianej *Elymus elongatus*

Agata Borowik, Jadwiga Wyszkowska, Jan Kucharski

Katedra Mikrobiologii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa,
Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie

Zanieczyszczenie gleby produktami ropopochodnymi, w tym olejem napędowym, narusza jej homeostazę. Fakt ten skłonił do przeprowadzono badań, których celem było określenie różnorodności bakterii w glebie poddanej presji oleju napędowego, ze szczególnym uwzględnieniem Proteobacteria. Badania realizowano w dwóch seriach: gleba niezanieczyszczona i zanieczyszczona BP Ultimate Diesel z technologią ACTIVE (DO). Jako roślinę doświadczalną wykorzystano *Elymus elongatus.* Aby zrealizować powyższy cel w glebie niezanieczyszczonej i zanieczyszczonej DO określono różnorodność taksonomiczną *Procaryota*. Analizę metagenomiczną wykonano na podstawie sekwencjonowania następnej generacji (NGS) techniką MiSeq (Illumina) (GENOMED S.A.). W wyniku badań stwierdzono, że skład biocenozy bakteryjnej w próbkach gleby niezanieczyszczonej i zanieczyszczonej olejem napędowym był zróżnicowany. Dominującym taksonem w randze *Phylum* w obu glebach były Proteobacteria. W glebie niezanieczyszczonej stanowiły one 43% wszystkich bakterii, a w glebie z olejem napędowym - 69%. W glebie niezanieczyszczonej dominowały *Alphaproteobacteria*, natomiast w glebie zanieczyszczonej DO - *Gammaproteobacteria*. Wykazano około 43% wspólnych OTU w próbkach gleby poddanej i niepoddanej presji DO.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (Projekt MINIATURA1) oraz ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność statutową.

Diversity of Proteobacteria in soil contaminated with BP Ultimate Diesel with active technology, sown with *Elymus elongatus*

Soil contamination with petroleum products, including diesel fuel, disturbs its homeostasis. This fact has prompted the authors to conduct a study to determine the diversity of bacteria in soil subjected to the pressure of diesel fuel, with particular reference to Proteobacteria. The study was carried out in two series, i.e. in a non-contaminated soil and in soil contaminated with BP Ultimate Diesel with active technology (DO). The experimental plant used in the study was *Elymus elongatus*. In order to achieve the above aim, the taxonomic diversity of *Procaryota* was determined in the non-contaminated soil and in the soil contaminated with DO. A metagenomic analysis was carried out based on next-generation sequencing (NGS) using the Illumina MiSeq technique (GENOMED S.A.). The study revealed that the composition of bacterial biocenosis in the samples of non-contaminated soil and in soil contaminated with diesel fuel varied. The dominant taxon within the *Phylum* range in both soils were Proteobacteria. In the non-contaminated soil, they accounted for 43% of all bacteria, while in the soil with diesel fuel they accounted for 69%. In the non-contaminated soil, *Alphaproteobacteria* dominated, while in the soil contaminated with DO, *Gammaproteobacteria* were dominant. Approx. 43% of common OTUs were demonstrated in the soil samples subjected and non-subjected to DO pressure.

This study was financed by funds of the National Science Centre (MINIATURA1 Project) and of the Ministry of Science and Higher Education.

Różnorodność Proteobacteria w glebie obsianej *Elymus elongatus* poddanej presji benzyny bezołowiowej 98 BP Ultimate z technologią ACTIVE

Agata Borowik

Katedra Mikrobiologii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie

Uwzględniając fakt, że z reguły Proteobacteria dominują w glebach, przeprowadzono badania, których celem było określenie różnorodności tych bakterii w glebie poddanej presji benzyny bezołowiowej 98 BP Ultimate z technologią Active. Badania wykonano w doświadczeniu wegetacyjnym wazonowym. O różnorodności Proteobacteria wnioskowano na podstawie analizy metagenomicznej próbek gleby posługując się sekwencjonowaniem następnej generacji (NGS) techniką MiSeq (Illumina), którą wykonano w firmie GENOMED S.A. W wyniku badań stwierdzono, że w glebie zanieczyszczonej benzyną bezołowiową 98 BP Ultimate z technologią Active (UP) dominowały *Alphaproteobacteria*, następnie *Gammaproteobacteria, Betaproteobacteria*, a najmniej było *Deltaproteobacteria*, natomiast w glebie niezanieczyszczonej - *Alphaproteobacteria*, następnie *Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria,* a najmniej - *Deltaproteobacteria.* Największe różnice między obydwoma glebami wystąpiły w różnorodności *Alphaproteobacteria* i *Gammaproteobacteria.* Wspólnych OTU w glebie niezanieczyszczonej i zanieczyszczonej UP było 71%. Zanieczyszczenie gleby UP przyczyniło się do eliminacji następujących rodzin: *Methylobacteriaceae, Cystobacterineae, Chromatiaceae, Ectothiorhodospiraceae, Crenotrichaceae i Methylococcaceae.*

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (Projekt MINIATURA1) oraz ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność statutową.

The diversity of Proteobacteria in soil sown with *Elymus elongatus* and subjected to pressure of BP Ultimate Unleaded 98 with active technology

Since Proteobacteria are generally dominant in soils, a study was conducted to determine the diversity of these bacteria in soil subjected to the pressure of BP Ultimate Unleaded 98 with active technology. The study involved a vegetative pot experiment and the diversity of Proteobacteria was determined based on a metagenomic analysis of soil samples, using next-generation sequencing (NGS) with the Illumina MiSeq technique conducted at the GENOMED S.A. company. The study revealed that in the soil contaminated with BP Ultimate Unleaded 98 with active technology (UP), *Alphaproteobacteria* were dominant, followed by *Gammaproteobacteria* and *Betaproteobacteria*, and *Deltaproteobacteria* were at the lowest levels, while in the non-contaminated soil, *Alphaproteobacteria* dominated, followed by *Betaproteobacteria* and *Gammaproteobacteria*, with the lowest levels of *Deltaproteobacteria*. The greatest differences between both soils occurred in the diversity of *Alphaproteobacteria* and *Gammaproteobacteria*. 71% of common OTUs were noted in the non-contaminated soil and in the soil contaminated with UP. Contamination of the soil with UP contributed to the elimination of the following families: *Methylobacteriaceae, Cystobacterineae, Chromatiaceae, Ectothiorhodospiraceae, Crenotrichaceae* and *Methylococcaceae.*

This study was financed by funds of the National Science Centre (MINIATURA1 Project) and of the Ministry of Science and Higher Education.

Różnorodność bakterii w środowiskach glebowych z okolic Polskiej Stacji Polarnej Hornsund (Arktyka)

Przemysław Decewicz[1], Mikołaj Dziurzyński[1], Adrian Górecki[1], Piotr Golec[1], Dorota Górniak[2], Krzysztof Poszytek[3], Łukasz Dziewit[1]

[1]Zakład Genetyki Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa
[2]Katedra Mikrobiologii i Mykologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn
[3]Pracownia Analizy Skażeń Środowiska, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa

Około 80% biosfery Ziemi jest uznane za obszar permanentnie zimny, ze średnią temperaturą poniżej 5˚C i to właśnie ten czynnik uznaje się za najbardziej limitujący życie na naszej planecie. W niniejszej pracy prezentujemy wyniki badań bioróżnorodności bakterii glebowych okolic Polskiej Stacji Polarnej im. Siedleckiego w Hornsundzie na południowo-zachodnim Spitsbergenie w Arktyce. Próby gleby pobrano na 6 stanowiskach: (i) obszar stacji (gleba podlegająca antropopresji), (ii) wybrzeże (wpływ morski), (iii) cyklicznie zalewana tundra (wpływ wody słodkiej, zwierząt i roślin), (iv) „sucha" tundra (wpływ zwierząt i roślin), (v) świeżo odsłonięta morena lodowcowa (gleby proglacjalne) oraz (vi) kolonia alczyków (gleby ornitogenne). Do oceny zróżnicowania bakterii glebowych zastosowano wysokoprzepustowe sekwencjonowanie nowej generacji NGS fragmentu V3-V4 genu 16S rRNA. Uzyskane wyniki wykazały bardzo duże zróżnicowanie bakteriocenozy glebowej. W badanych próbkach w zależności od stanowiska zidentyfikowano od 713 do 896 operacyjnych jednostek taksonomicznych (OTU, na poziomie 97% identyczności). Największa różnorodność bakterii występowała w cyklicznie zalewanej tundrze oraz w antropogenicznie zmienionej glebie na placu manewrowym stacji polarnej. Najmniejsza bioróżnorodność bakterii wykazano w zasolonej glebie z wybrzeża oraz zasobnej w azot ornitogennej glebie z kolonii alczyków. Na podkreślenie zasługuje wysokie podobieństwo struktury bakteriocenozy oraz składu dominujących fylotypów w glebie z wybrzeża i „suchej" tundry oraz „mokrej" tundry i gleby z alczykowiska.

Bacterial diversity in soils samples from Polish Polar Station Hornsund (Arctica)

About 80% of Earth's biosphere is permanently cold with temperature below 5˚C, thus temperature is thought to be the most life-limiting factor on the planet. In this work we present the study of bacterial diversity of soil samples, collected from the surroundings of Polish Polar Station Hornsund in Arctica, which include (i) station's neighborhood (with anthropogenic influence), (ii) coastal region (sea influence), (iii) regularly flooded tundra (influence of sweet water, animals and plants), (iv) "dry" tundra (influence of animals and plants), (v) freshly uncovered glacial moraine (proglacial soil) and (vi) little auk colony (ornithogenic soil). The samples were analyzed to discover bacterial diversity through the sequencing analysis of V3 V4 region of 16S rRNA marker gene. As the result, we observed high diversity of bacteria and identified 713 to 896 OTUs (based on 97% identity) in each sample. The highest diversity has been observed in regularly flooded tundra and the neighborhood of the station, while the lowest was in samples from the sea coast and little auk colony. What is interesting, based on taxonomic and abundance information the samples from the coastal region and "dry" tundra and analogously regularly flooded tundra and little auk colony were reciprocally most similar.

Plazmidy bakteryjne i ich ekologiczna rola w arktycznej wiecznej zmarzlinie

Adrian Górecki[1], Stine Holm[2], Matthias Winkel[2], Susanne Liebner[2], Dirk Wagner[2], Mikołaj Dziurzyński[1], Łukasz Dziewit[1], Fabian Horn[2]

[1]Zakład Genetyki Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski
[2]Section 5.3 Geomicrobiology, GFZ German Research Centre for Geosciences, Helmholtz-Zentrum Potsdam

Horyzontalny transfer genów jest głównym czynnikiem kształtującym różnorodność i wpływającym na adaptację bakterii do zmieniających się warunków środowiska. Wieczna zmarzlina z uwagi na unikatowe cechy, tzn. małą liczebność bakterii, mozaikowość struktur glebowych, zmienność czynników środowiskowych oraz naprzemienne cykle zamarzania i rozmarzania stanowi doskonały model badawczy do badań przystosowania mikroorganizmów do zmiennych warunków środowiska. Dotychczasowa wiedza na temat plazmidomu z rejonów polarnych opiera się na analizie plazmidów wyizolowanych z czystych kultur bakteryjnych lub próbek metagenomicznych. Niewiele wiadomo natomiast o całkowitej informacji genetycznej zapisanej w metaplazmidomie środowisk polarnych. W celu zbadania metaplazmidomu wiecznej zmarzliny z Arktyki, wykonano hodowle wzbogacające, a następnie sekwencjonowanie NGS próbek pobranych z dwóch stanowisk znajdujących się na wyspie Samylov, na Syberii. Następnie za pomocą programu MAISEN przeprowadzono adnotacje strukturalną oraz funkcjonalną uzyskanych kontigów. Analiza sekwencji plazmidowych wykazała ich największe podobieństwo do genomów bakterii z rodzaju *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia* oraz *Janthinobacterium.* Zsekwencjonowane plazmidy są prawdopodobnie zdolne do transferu koniugacyjnego (obecność genów *tra*). Ponadto zidentyfikowano w ich genomach geny gwarantujące odpowiedź bakterii na czynniki stresowe w tym, antybiotyki (geny kodujące pompy wielolekowe [SMR, RND]), jony metali ciężkich (np. geny *CzcD*, *TerC*) oraz promieniowanie UV (moduły *umuCD*).

Bacterial plasmids and their ecological role in Arctic permafrost environment

Horizontal gene transfer serves as a major force shaping bacterial diversity and adaptation. Permafrost soil, with its low biomass, spatial heterogeneity, strong environmental fluctuations and freezing/thawing cycles, makes it an interesting microbial environment when studying the response of the microbial community to changing environmental conditions. Sequencing of plasmids and genomes has provided insight into plasmid-mediated plasticity of soil bacteria. However knowledge on the total environmental plasmid abundance and diversity in Arctic is scarce. Enrichment culturing, DNA sequencing and subsequent structural and functional annotation using MAISEN was applied for sequenced metaplasmidome from two sites of Samoylov Island, Siberia. Analysis of plasmid sequences revealed the highest similarity with genomic sequences of bacteria of the genus *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia* and *Janthinobacterium*. The analysed plasmid showed high potential for mobilization (the presence of *tra* genes) and involvement in microbial stress tolerance (multidrug efflux systems [SMR, RND], heavy metal resistance genes [e.g. *Czc*D, *Ter*C], and UV resistance systems (*umuCD* modules).

Analiza mikroorganizmów tworzących biofilmy w środowiskach ekstremalnych

Tomasz Cłapa[1], Dorota Narożna[2], Mirosława Dabert[3], Julia Olechnowicz[3], Krzysztof Pudełko[2]

[1]Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Szydłowska 50, 60-656 Poznań;
[2]Katedra Biochemii i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Dojazd 11, 60-632 Poznań;
[3]Wydziałowa Pracownia Technik Biologii Molekularnej, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Mikroorganizmy w środowisku mogą występować w postaci, pojedynczych komórek, jednakże poprzez tendencję do adsorpcji na granicy faz mogą tworzyć skupiska otoczone macierzą zewnątrzkomórkową. Biofilmy odgrywają istotną rolę w środowisku naturalnym. Struktura biofilmu jest związana z czynnikami środowiskowymi, w jakich wzrasta, geochemią podłoża czy udziałem poszczególnych gatunków mikroorganizmów wchodzących w jego skład. W celu przetrwania, społeczność ta wytwarza pozakomórkowo biopolimery, EPS (extracellular polymeric substances). Forma takiego współżycia chroni drobnoustroje przed niekorzystnymi warunkami środowiska – szokiem osmotycznym, ekspozycją na związki toksyczne czy promieniowaniem UV. Złożoności biofilmów wymaga kompleksowości badań oraz implementacji najnowszych technik biologii molekularnej (sekwencjonowanie nowej generacji), technik mikroskopowych (Cryo-SEM) oraz analiz geochemicznych, opisujących teren, z jakiego próbki zostały pobrane.

Analyses of microorganisms able to live as a biofilm in the extream environments

Bacteria that live in the environment are able to growth not only as planktonic cells, but they prefer to live as a very complex structure, called biofilm. It is a consortium of microorganisms that is protected through secretion of extracellular polymeric substances (EPS). Thus, they are being resistant from low pH, UV radiation or toxic elements present in the environment. Complexity of such community requires sophisticated analyses, such as: new generation sequencing, high resolution microscopy techniques (Cryo-SEM) as well as geochemical analyses of the environment that biofilms are able to growth.

Profil taksonomiczny grzybów zasiedlających metal z XVI–XVIII wieku

Katarzyna Rajkowska[1], Anna Otlewska[1], Patricia Guiamet[2,3], Beata Gutarowska[1]

[1]Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka
[2]Instituto de Investigaciones Físicas Químicas Aplicadas (INIFTA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, CCT La Plata-CONICET, La Plata, Buenos Aires, Argentina
[3]Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina

Analiza bioróżnorodności grzybów została przeprowadzona dla trzech próbek archeologicznego metalu, przechowywanych w Depozycie 25 Muzeum Nauk Naturalnych w La Plata, Argentyna. Dwie próbki metalu pochodzą z okresu kolonialnego, ze stanowiska archeologicznego w prowincji Catamarca w północnej części Argentyny. Trzecia próbka metalu datowana jest na XVI–XVII wiek i stanowiła prawdopodobnie element kręgu, służącego do przygotowania potraw, będącego częścią kuchni lub patio domu. Próbka pochodziła z prowincji Santiago del Estero "Monumento Imigrantes". Celem badań było zastosowanie analizy metagenomicznej na platformie Illumina w ocenie różnorodności grzybów kolonizujących zabytkowy metal. DNA genomowe wyizolowano bezpośrednio z próbek metalu, a do konstrukcji bibliotek genów zastosowano startery uniwersalne, komplementarne do regionu ITS grzybów. Dodatkowo próbki metalu analizowano przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego z analizatorem EDX. W badanych próbkach metalu wykryto od 22 do 28 rodzajów grzybów sklasyfikowanych do 12 klas. Dominowały grzyby z klas *Dothideomycetes*, *Eurotiomycetes*, *Leotiomycetes* i *Saccharomycetes*. We wszystkich badanych próbkach stwierdzono także obecność *Cryptococcus* sp., reprezentującego klasę *Tremellomycetes*. Analiza SEM-EDS wskazuje na występowanie żelaza (65,55 % wag.), tlenu (29,12 % wag.), węgla (1,82 % wag.) i krzemu (1,14 % wag.) w badanych próbkach metalu. Morfologia powierzchni metalu świadczyła o jego korozji, a wykryte drobnoustroje wiązane są z procesami biodeterioracji.

Taxonomic profile of fungi colonizing metal from the XVI–XVIII century

The analysis of fungi biodiversity was carried out for three archeological metal samples, stored in Deposit 25 of the Museum of Natural Sciences of La Plata in Argentina. Two metal samples are from the colonial period, and come from the archaeological site in the Catamarca province in the northern part of Argentina. The third metal sample is dated to the XVI–XVII century and was probably a part of the kitchen or the patio of a house and came from "Monumento Imigrantes", Santiago del Estero Province in the northern part of Argentina.The research objective was to determine the diversity of fungi inhabiting archeological metal. Genomic DNA was isolated directly from the metal samples. Libraries were constructed using primer sets corresponding to ITS region of fungi. In addition, the samples were analyzed with scanning electron microscopy and EDX. In the examined samples of metal, 22 to 28 species of fungi which belonged to 12 classes were detected. The most abundant were *Dothideomycetes*, *Eurotiomycetes*, *Leotiomycetes* and *Saccharomycetes*. In all tested samples the presence of *Cryptococcus* sp. representing *Tremellomycetes* was also found. SEM-EDS analysis of materials surfaces revealed the presence of iron (65.55 wt %), oxygen (29.12 wt %), carbon (1.82 wt %) and silicon (1.14 wt %) in the tested metal samples. The morphology of the metal surface indicated its corrosion, while detected microorganisms are known from their biodeterioration potential.

Acknowledgements. Sample 3 is being processed by Dr. A. Igareta CONICET Museum of Natural Sciences of La Plata.

Charakterystyka filogenetyczna szczepów *Bradyrhizobium* izolowanych z brodawek korzeniowych *Lotus corniculatus* rosnących na hałdach galmanowych

Marzena Sujkowska-Rybkowska[1], Joanna Banasiewicz[2], Tomasz Stępkowski[2]

[1]Katedra Botaniki, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, budynek 37, 02-776 Warszawa
[2]Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, budynek 37, 02-776 Warszawa

Badane szczepy *Bradyrhizobium* pochodziły z brodawek korzeniowych *Lotus corniculatus* (*Fabaceae*) występujących na ponad 100-letniej Zn/Pb hałdzie galmanowej „Bolesław". Po przeprowadzeniu testu autentyzacji mającego na celu potwierdzenie ich zdolności symbiotycznych, wyizolowane szczepy *Bradyrhizobium* zostały poddane badaniom filogenetycznym. W tym celu dokonano amplifikacji i sekwencjonowania fragmentu genu *recA* (kodującego rekombinazę A), który jest powszechnie stosowanym markerem w badaniach filogenetycznych odnoszących się do niesymbiotycznej części genomu ryzobium. Analiza sekwencji genu *recA* wykazała niski poziom zróżnicowania badanych izolatów oraz wysokie podobieństwo do szczepów zaliczanych do gatunku *Bradyrhizobium liaoningense*. Gatunek ten nie został dotąd opisany na obszarze Polski. Jak przypuszczamy, obecność tego gatunku może być wynikiem alkalicznego charakteru gleb, w których badane szczepy *Bradyrhizobium* występują. Amplifikacja i sekwencjonowanie fragmentu genu *nifD* (kodującego podjednostkę alfa nitrogenazy) wykazało pokrewieństwo ze szczepami *Bradyrhizobium* tworzącymi klad XVII, który jest grupą obejmującą szczepy występujące głównie na obszarach tropikalnych. Największe podobieństwo do badanych szczepów wykazała sekwencja *nifD* szczepu izolowanego z *Acacia longifolia* w Australii. Godnym podkreślenia jest fakt, iż do chwili obecnej, jedyną grupą której występowanie stwierdzono na obszarze Polski jest klad II, obejmujący szczepy *Bradyrhizobium* zakażające przedstawicieli plemion Genisteae i Loteae. W odróżnieniu od kladu XVII, klad II występuje w Europie, Ameryce Północnej i Południowej na obszarach charakteryzujących się klimatem umiarkowanym.

Phylogenetic properties of *Bradyrhizobium* strains isolated from *Lotus corniculatus* root nodules growing on Zn/Pb tailings in Poland

Bradyrhizobium strains were isolated from nodules of *Lotus corniculatus* growing on Zn/Pb tailings "Bolesław" and subjected to phylogenetic analyses. Analysis of generated *recA* gene sequences showed a low level of diversity among the *Bradyrhizobium* isolates and strains phylogenetic affinity to *Bradyrhizobium liaoningense* species, which, what is worth mentioning, has not yet been described in Poland. We suspect that the presence of this *Bradyrhizobium* species may result from the alkaline character of the soil habitat to which this species seems to be adapted. Unexpectedly, the amplification, sequencing and subsequent phylogenetic analysis of *nifD* gene fragment (encoding the alpha-subunit of the nitrogenase) showed a relationship with *Bradyrhizobium* strains constituting Clade XVII, a group that includes strains found mainly in tropical areas. The highest (97%) similarity of *Bradyrhizobium* isolates showed to the *nifD* sequence of a strain isolated from *Acacia longifolia* in Australia. It is worth emphasizing that until now, the only group which occurrence has been recorded in Poland is Clade II, a symbiotic gene group that comprises *Bradyrhizobium* strains infecting *Fabaceae* species belonging to the Genisteae and Loteae tribes. Unlike Clade XVII, Clade II occurs in Europe as well as in temperate parts of North and South America.

Charakterystyka konsorcjum metanotroficznego w warunkach zasolenia

Weronika Goraj, Zofia Stępniewska, Izabela Kieraga, Alicja Trzpil

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Instytut Biotechnologii, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, ul. Konstantynów 1I, 20-708 Lublin, e-mail: weronikagoraj@kul.pl

Praca dotyczy konsorcjum metanotrofów i heterotrofów wyizolowanych z Kopalni Soli „Wieliczka". Metanotrofy stanowią podgrupę fizjologicznej grupy jakimi są metylotrofy. Filogenetycznie, metanotrofy należą do α- lub γ- *Proteobacteria*, ale są też przedstawiciele typów *Verrucomicrobia* i NC10. Halotolerancyjne i halofilne metanotrofy wyizolowano do tej pory z wody morskiej, przybrzeżnych lagun i kilku jezior sodowych. Celem badań było rozpoznanie i scharakteryzowanie społeczności metanotrofów i heterotrofów występujących w skałach otaczających złoża soli w Wieliczce. Mikroorganizmy metanotroficzne wyizolowano z materiału skalnego i zidentyfikowano za pomocą sekwencjonowania następnej generacji (NGS) z wykorzystaniem regionu V3-V4 genu 16S rRNA na platformie Illumina MiSeq (GENOMED S.A.). Odpowiedź konsorcjum na różne zasolenie (1-3% NaCl) zbadano w oparciu o zmianę profilu kwasów tłuszczowych. Wyniki wykazały, że konsorcjum metanotroficzne było zdominowane przez metanotrofy z rodzajów *Methylomonas* (48,848%), *Methylomicrobium* (15,6%) i *Methylosinus* (0,194%) oraz heterotrofy należące do rodzajów: *Niabella* (9,375%), *Xenophilus* (2,379%), *Opitutus* (1,744%) i *Hyphomicrobium* (1,290%). W wyniku stresu solnego odnotowano zmianę profilu kwasów tłuszczowych (C14:0; C15:0; C16:0; C16:1n7; C18:0; C18:1n9c+C18:1n9t; C18:2n6c) społeczności metanotrofów co może świadczyć o zmianie proporcji w składzie konsorcjum.

Characterization of methanotrophs consortium in salinity conditions

This work concerns methanotrophs and heterotrophs consortium isolated from "Wieliczka" Salt Mine. Methanotrophs are a subset of a physiological group of bacteria known as methylotrophs. Phylogenetically, methanotrophs belong to α- or γ- *Proteobacteria*, but there are also some representatives affiliated as *Verrucomicrobia* and NC10 phylum. Halotolerant and halophilic methanotrophs have been isolated from seawater, coastal lagoons, and several soda lakes. The aim of this study was the recognition and characterization of methanotrophs and heterotrophs community found in rocks surroundings Wieliczka salt deposits. Methanotrophic microorganisms isolated from rocks material were identified by next generation sequencing (NGS) base on V3-V4 region of the 16S rRNA gene (GENOMED S. A.). The response of consortium to different salinity (1-3% NaCl) was examined based on the change in the fatty acid profile. The results indicated that methanotrophic consortium was dominated by methanotrophs from the genera *Methylomonas* (48.848%), *Methylomicrobium* (15.636%) and *Methylosinus* (0.194%) and heterotrophs from the genera: *Niabella* (9.375%), *Xenophilus* (2.379%), *Opitutus* (1.744%) and *Hyphomicrobium* (1.290%). As a result of salt stress, a change in the acid profile C14:0; C15:0; C16:0; C16:1n7; C18:0; C18:1n9c+C18:1n9t; C18:2n6c) of methanotrophs community was observed which can indicate a change in the proportion of consortium composition.

Praca częściowo powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DEC-2014/15/N/NZ8/00315 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

Analiza metagenomiczna biogazu produkowanego z kiszonki kukurydzianej i wywaru zbożowego

Jacek Panek, Magdalena Frąc, Agata Gryta, Nina Bilińska-Wielgus

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

Biogaz jest środowiskiem, w którym na ogół mikroorganizmy nie rozwijają się. Jednakże ze względu na uzdolnienia mikroorganizmów do tworzenia biofilmów podczas długotrwałego przepływu możliwe jest ich występowanie w środowisku biogazu. Celem badań było określenie składu mikroorganizmów występujących w biogazie. Eksperyment prowadzono w czterech seriach w biogazowni rolniczej, przepuszczając biogaz w ciągu 7 dni przez płuczkę wodną wypełnioną solą fizjologiczną. Mikroorganizmy występujące w biogazie w czasie przepłukiwania przez płuczkę wodną osadzały się w soli fizjologicznej, z której następnie przeprowadzono izolację DNA. Analiza metagenomiczna genu kodującego 16S rRNA została przeprowadzona na bazie hiperzmiennego regionu V4 genu 16S rRNA. Analiza taksonomiczna wykazała, że większość bakterii należała do *Proteobacteria* (42,80-89,93%). Stwierdzono również znaczny udział bakterii, należących do *Actinobacteria* (24,15-25,35%). Wśród *Proteobacteria* znaczny udział miały *Gammaproteobacteria* (37,53-81,30%), *Betaproteobacteria* (4,02-5,30%) i *Clostridia* (16,88%). Bakterie należące do *Actinobacteria* należały do rodziny *Propionibacteriaceae* i rodzaju *Propionibacterium.*

Badania naukowe finansowane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Programu LIDER 2011-2014

Metagenomic analysis of biogas produced from corn silage and grain broth

In general biogas is an environment free of microorganisms. However due to the ability of microorganisms to biofilms formation during long-term flow it is possible that microorganisms can occur in a biogas environment. The aim of the study was to determine the composition of microorganisms in biogas. The experiment was conducted in four replications in an agricultural biogas treatment plant. Biogas flowed through a water scrubber with physiological saline during 7 days. The microorganisms present in the biogas during flowing by the water scrubber settled in physiological saline. Then DNA was isolated from the physiological saline. Metagenomic analysis of the 16S rRNA gene was performed on the basis of the hypervariable region of the 16S rRNA gene. Taxonomic analysis showed that most bacteria belonged to *Proteobacteria* (42.80-8.93%). Bacteria belonging to *Actinobacteria* (24.15-25.35%) was also at high level in the samples. Among the *Proteobacteria*, *Gammaproteobacteria* (37.53-81.30%), *Betaproteobacteria* (4.02-5.30%) and *Clostridia* (16.88%) were dominant. Bacteria belonging to *Actinobacteria* represented *Propionibacteriaceae* family and *Propionibacterium* genus.

Scientific work was funded from the budget for science by The National Centre for Research and Development in Poland. LIDER Programme 2011-2014

Promieniowce (*Actinomycetes*) górskich ekosystemów trawiastych

Anna Pikulicka

Państwowa Wyższa Szkoła Wschodnioeuropejska w Przemyślu

Celem pracy było szczegółowe poznanie składu mikrobiocenotycznego populacji promieniowców występujących w środowiskach glebowych górskich ekosystemów trawiastych na terenie Bieszczadzkiego Parku Narodowego oraz ocena ich bioróżnorodności. Badania wykazały, że promieniowce występowały w bardzo zróżnicowanej liczebności, zależnie od miejsca poboru prób tj. rodzaju gleby i jej właściwości, a także od rodzaju szaty roślinnej i wysokości n.p.m. Największą liczebność promieniowców stwierdzano w glebach brunatnych właściwych i madach górskich właściwych w ekosystemach trawiastych łąk, *Arrenatheretum elatioris* i *Lolio-Cynosuretum*. Badania ilościowe nad występowaniem promieniowców w glebach łąk i połonin na terenie BdPN wskazują, że ich ilości są znacznie zróżnicowane. Promieniowce w badanych ekosystemach trawiastych występowały w ilościach od 15,57 – 135,80 jtk tys./g s.m. gleby. Największe zróżnicowanie gatunkowe promieniowców spośród badanych ekosystemów trawiastych stwierdzono w ekosystemach *Arrhenatharetum elatioris,* a najmniejsze w ekosystemach *Potentillo aureae-Festucetum airoides* i *Tanaceto-Calamagrostietum arundinaceae*. Z badanych gleb wyizolowano wiele szczepów promieniowców, które zaliczono do 5 rodzajów, zidentyfikowano i oznaczono 36 gatunków promieniowców. Wykazano, że badane środowiska glebowe górskich ekosystemów trawiastych BdPN są dużym rezerwuarem promieniowców, a ich występowanie jest powszechne. Praktycznie z każdego miejsc i z każdej gleby na terenie BdPN wyizolowano promieniowce. Wyizolowane i oznaczone do gatunku promieniowce poddano wielokierunkowej ocenie oznaczając ich właściwości fizjologiczne i biochemiczne, używając do tego celu wiele nowoczesnych testów i typowych standardowych badań analitycznych wg Alef i Nannipieri [1995]. Badane gatunki promieniowców posiadały szerokie uzdolnienia biochemiczne i fizjologiczne do wykorzystywania, jako źródło węgla i azotu różnych związków organicznych i nieorganicznych. Natomiast czynniki fizyko-chemiczne wpływały w różny sposób na badane gatunki promieniowców. Temperatura, odczyn i promieniowanie UV miały największy wpływ na ich wzrost i rozwój. Reakcja promieniowców na pestycydy, metale ciężkie, mykotoksyny, antybiotyki i substancje oleiste była różna, zależnie od gatunku. Z kolei płyny pohodowlane badanych gatunków promieniowców stymulowały wzrost roślin testowych. Nie stwierdzono negatywnego oddziaływania płynów uzyskanych z hodowli wybranych promieniowców na wzrost i rozwój badanych roślin testowych. Te różnorodne właściwości fizjologiczne i biochemiczne promieniowców oraz produkcja substancji biologicznie czynnych stwarza możliwość ich wykorzystania w lecznictwie, rolnictwie, przemyśle farmaceutycznym, spożywczym i biotechnologii.

Actinomycetes (*Actinomycetales*) in mountain grassy ecosystems

The aim of the study was a detailed knowledge of the composition of the microbiocenotic population of actinomycetes found in soil environments of mountain grassy ecosysyems in the Bieszczady National Park and assess their biodiversity. Studies have shown that actinomycetes occurred in a number of diverse, depending on the place of sampling, i.e. soil type and its properties, as well as the type of vegetation and the height above the sea level. The greatest number of actinomycetes was found in the brown soils proper and appropriate mountain alluvial soils in ecosystems grassy meadows, *Arrenatheretum elatioris* and *Lolio-Cynosuretum*. Quantitative research on the occurrence of actinomycetes in soils of meadows and pastures in the BNP indicate that the amounts are considerably varied. Actinomycetes in the studied ecosystems grassy present in amounts from 15.57 - 135.80 c.f.u thousand/g d.m. of soil. The greatest species diversity actinomycetes of the respondents grassy ecosystems found in ecosystems *Arrhenatharetum elatioris*, and the smallest in ecosystems *Potentillo aureae-Festucetum* airoides and *Tanaceto-Calamagrostietum arundinaceae*. With investigated soils isolated many strains of actinomycetes, which included the 5 genera have been identified and designated 36 species of actinomycetes. It has been shown that the tested soil environment of mountain ecosystems, grasslands BNP is a large reservoir of actinomycetes, and their occurrence is common. Practically from all places and in each of soil in the BNP were isolated actinomycetes. Isolated and identified to the species actinomycetes were multi assessed by determining their physiological and biochemical characteristics, using the modern test and the typical standard analytical research by Alef and Nannipieri [1995]. The species of actinomycetes have broad physiological and biochemical abilities to use as a carbon and nitrogen source various organic and inorganic compounds. In contrast, physical and chemical factors influence in different ways the test species of actinomycetes. Temperature, pH and UV radiation have the greatest impact on their growth and development. Reaction actinomycetes on pesticides, heavy metals, mycotoxins, antibiotics and oil substances varied, depending on the species. On the other hand, post-culture liquids species studied actinomycetes stimulated the growth of the test plants. No negative impact fluid obtained from a culture of actinomycetes selected on the growth and development of the examined test plants. These various physiological and biochemical properties of actinomycetes and production of biologically active substances creates the possibility of their use in medicine, agriculture, pharmaceuticals, food and biotechnology.

POSTERY
NOWOCZESNE METODY BADAŃ I IDENTYFIKACJI BAKTERII

MALDI-TOF MS jako alternatywna metoda identyfikacji bakterii fermentacji mlekowej

Joanna Bucka-Kolendo[1], Barbara Sokołowska[1]

[1]Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Prof. Wacława Dąbrowskiego w Warszawie, Zakład Mikrobiologii

Materiał biologiczny stanowiło 12 szczepów bakterii fermentacji mlekowej (wyizolowanych z produktów spożywczych wykazujących objawy zepsucia - soki, piwo, napoje i pieczywa. Przynależność gatunkowa została określona przy użyciu klasycznych metod mikrobiologicznych oraz na podstawie amplifikacji genu 16S rDNA. Analizę podobieństwa otrzymanych sekwencji 16S rDNA przeprowadzono z wykorzystaniem programu GenBank. Typowanie metodą MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry), przeprowadzono z użyciem systemu identyfikacji drobnoustrojów MALDI Biotyper. Na podstawie analizy widm białek otrzymanych mikroorganizmów, porównanych z biblioteką, zidentyfikowano otrzymane drobnoustroje do poziomu gatunku. Identyfikacja LAB z wykorzystaniem analizy sekwencji odcinka 16S rDNA pozwoliła przypisać wszystkie badane szczepy na poziomie 99-100% identyczności z bazą danych GenBank. Poziom identyczności pozwolił na wiarygodną i jednoznaczną identyfikację, odpowiednio: dwa szczepów *L. plantarum*, dwa *L. rhamnosus*, dwa *L. backii*, cztery *L. brevis*, 1 *L. rossiae* i 1 *L. curvatus*. Jednocześnie identyfikacja z wykorzystaniem techniki MALDI-TOF, w porównaniu do analizy 16S, pozwoliła na wiarygodną identyfikację pięciu z dwunastu (5/12) badanych szczepów: jeden*L. plantarum*, trzy *L. brevis* i jeden *L. rossiae*. Różnicowanie szczepów metodą MALDI-TOF nie przyniosło oczekiwanych rezultatów (41,6% zgodności), może to wynikać z zasobów bazy danych, w której wyniki są porównywane. Aby zwiększyć siłę identyfikacji metody MALDI-TOF MS należy rozszerzyć dostępną liczbę widm białek w bazie. Obecnie w celu wiarygodnego określania taksonomicznego badanych bakterii fermentacji mlekowej, wydaje się konieczne łączenie techniki MALDI-TOF z metodami genetycznymi.

MALDI-TOF MS as an alternative method for the identification of lactic acid bacteria

Biological material were 12 strains of lactic acid bacteria (isolated from food samples obtained commercially from clients: juices, beverages, beers and bread).Species affiliation was define based on the classical microbiological methods and 16S rDNA sequence analysis. Obtained sequences were compared with sequences available from public database GenBank. To evaluate the alternative method for identification of 16S rDNA sequence in LAB, the MALDI-TOF analysis was carried out with the use of MALDI Biotyper system. Based on the analysis of the protein spectra, bacteria were compared with the reference database and identified to the species level. With the comparative analysis of 16S rDNA sequences, the taxonomic origin of the isolates were determined as 99-100% identical with GenBank. The level of identity allowed to reliably identified strains as: two *L. plantarum,* two *L. rhamnosus,* two *L. backii,* four *L. brevis,* one *L. rossiae*, one *L. curvatus.* The identification with MALDI-TOF, in comparison to 16S, allowed to accurate identification only 5 of 12 strains: one *L. plantarum*, three *L. brevis* and one *L. rossiae.* However the discriminatory power of MALDI-TOF method was insufficient, only 41,6% of strains were correctly identify, what can be cause by the present state of the database. To increase the discriminatory power of MALDI-TOF MS, the range of available spectra in the database has to be sufficient. At this point the combination of MALDI-TOF MS and genetic methods seems to be necessary for clarification of taxonomically problematic groups of bacteria.

Wpływ temperatury na wzrost bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* podczas przednamnażania – metoda klasyczna i Real – Time PCR

Agnieszka Dekowska, Joanna Bucka-Kolendo, Barbara Sokołowska

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, Zakład Mikrobiologii

Występujące naturalnie w glebie i na owocach, termofilne, kwasolubnei przetrwalnikujące bakterie z rodzaju *Alicyclobacillus* stanowią istotny problem w branży sokowniczej. Przeżywają one w standardowych warunkach pasteryzacji oraz niektóre z nich wytwarzają związki, które wywołują w produktach niekorzystne zmiany sensoryczne, np. gwajakol. Zgodnie z Metodą IFU nr 12 przeznaczonej do wykrywania i identyfikacji *Alicyclobacillus*, bakterie te powinny być inkubowane w 45 °C. Czas analizy tą metodą wynosi około 15 dni, ze względu na stosunkowo wolny wzrost bakterii. Celem niniejszej pracy była ocena wpływu temperatury na wzrost bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus,* za pomocą metod standardowych oraz Real-Time PCR. Materiał do badań stanowiły próbki soków owocowych naturalnie zanieczyszczone bakteriami *Alicyclobacillus*, oraz soki kontaminowane szczepami referencyjnymi. Badania przeprowadzono za pomocą klasycznych posiewów, oraz za pomocą Foodproof Alicyclobacillus detection Kit (Biotecon) opartego o Real-Time PCR. Analizę dynamiki wzrostu szczepów *Alicyclobacillus* przeprowadzono dla dwóch temperatur, 45 °C i 50 °C. Wyniki zebrane zarówno za pomocą metod klasycznych, jaki Real-Time PCR, wskazały, że szybszy wzrost bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* zachodzi w 50 °C. Dobranie bardziej optymalnej dla wzrostu bakterii temperatury inkubacji, mogłoby skrócić czas analizy, zarówno w przypadku metod klasycznych, jak i molekularnych.

Influence of temperature on the growth of *Alicyclobacillus* during the enrichment step - classic method and Real - Time PCR

Naturally occurring in soil and on the fruits, thermophilic, acidophilic and sporeforming bacteria of the genus *Alicyclobacillus* are a significant problem in the juice industry. They survive in the standard pasteurization conditions and some of them produce compounds, such as guaiacol, that cause adverse sensory changes in the products. According to the IFU Method No. 12 for the detection and identification of *Alicyclobacillus*, these bacteria should be incubated at 45 ° C. The time of analysis for this method is about 15 days, due to the relatively slow growth of the bacteria. The aim of this study was to evaluate the influence of temperature on the growth of *Alicyclobacillus*, using standard methods and Real-Time PCR. The testing material were the fruit juice samples naturally contaminated with *Alicyclobacillus*, and juices contaminated with reference strains. The tests were performed by classical methods, and by Real-Time PCR based Foodproof *Alicyclobacillus* detection Kit (Biotecon).

Analysis of the growth dynamics of *Alicyclobacillus* strains was carried out for two temperatures, 45 ° C and 50 ° C. The results collected both by classical methods and Real-Time PCR indicated that the faster growth of bacteria from the genus *Alicyclobacillus* occurs at 50 °C. Choosing a more optimal incubation temperature for bacterial growth could shorten the analysis time, both for classical and molecular methods.

Identyfikacja bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* za pomocą PCR-RFLP w oparciu o gen *gyrB*

Agnieszka Dekowska, Barbara Sokołowska

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, Zakład Mikrobiologii

Bakterie z rodzaju *Alicyclobacillus* są to Gram-dodatnie, przetrwalnikujące kwasolubne laseczki, stanowiące naturalny składnik mikrobiomów glebowych. Przeżywają w standardowych warunkach pasteryzacji, a niektóre z nich są przyczyną psucia się soków owocowych ze względu na wytwarzane przez nie związki, np. gwajakol. Tradycyjne metody wykrywania i identyfikacji *Alicyclobacillus* zajmują kilkanaście dni i umożliwiają wyłącznie rozróżnienie pomiędzy gatunkami wytwarzającymi i nie wytwarzającymi gwajakol. Z tego powodu poszukuje się szybszych i bardziej precyzyjnych metod. Gen *gyrB* kodujący podjednostkę B gyrazy, jest jednym z genów metabolizmu podstawowego i występuje w genomie w jednej kopii. Celem pracy była identyfikacja i charakterystyka szczepów *Alicyclobacillus*, za pomocą metody PCR-RFLP w oparciu o gen *gyrB*. Materiałem badawczym był genomowy DNA szczepów *Alicyclobacillus*, wyizolowanych z krajowych soków owocowych oraz DNA szczepów referencyjnych. Profile RFLP uzyskane za pomocą dwóch z czterech stosowanych enzymów restrykcyjnych (BsuRI i HphI) umożliwiły rozróżnienie wszystkich analizowanych gatunków w obrębie rodzaju *Alicyclobacillus* oraz szczepów referencyjnych. Określono również, że badane szczepy *A. acidoterrestris* można podzielić na 2 duże grupy. Analiza bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* za pomocą PCR-RFLP w oparciu o gen *gyrB* okazała się szybką i precyzyjną metodą, za pomocą której możliwa była identyfikacja i różnicowanie tych bakterii

Identification of *Alicyclobacillus* species using PCR-RFL, based on *gyrB* gene.

Alicyclobacilli are Gram-positive, sporeforming, acidophilic bacilli, which are a natural component of soil microbiome. They survive in standard pasteurization conditions, and some of them cause spoilage of fruit juices due to the compounds they produce, such as guaiacol. Detection and identification of *Alicyclobacillus* by traditional methods takes about a dozen days and allows only to distinguish between species producing and non producing guaiacol. Therefore, faster and more precise methods are sought for. Encoding the gyrase subunit B, the *gyrB* gene is one of the housekeeping genes and is present in the genome in one copy. The aim of the work was the identification and characterization of *Alicyclobacillus* strains, using the PCR-RFLP method based on the *gyrB* gene. The research material was genomic DNA of *Alicyclobacillus* strains, isolated from domestic fruit juices, and DNA of reference strains. Profiles obtained using two of four tested restriction enzymes (BsuRI and HphI) enabled to distinguish between all analyzed species within the genus *Alicyclobacillus* and reference strains. It was also determined that the strains of *A. acidoterrestris* can be divided into two large groups. Analysis of bacteria from the genus *Alicyclobacillus* using PCR-RFLP based on the *gyrB* gene proved to be a quick and precise method which enabled to identify and differentiate these bacteria.

Mikrobiom ektopasożytniczych roztoczy z rodziny *Syringophilidae* (Acariformes: Prostigmata)

Eliza Głowska[1], Zuzanna Filutowska[2], Kamila Romanowska[1], Mirosława Dabert[2]

[1]Adam Mickiewicz University, Faculty of Biology, Department of Animal Morphology, 61-614 Poznan, Poland; glowska@amu.edu.pl

[2]Adam Mickiewicz University, Faculty of Biology, Molecular Biology Techniques Laboratory, 61-614 Poznan, Poland

Mikrobiom jest istotną częścią organizmu gospodarza. Bakterie zaopatrują gospodarzy w składniki odżywcze, warunkują metabolizm, zapewniają ochronę przed patogenami, manipulują procesami rozrodczymi, wpływają na dobór partnera i procesy ewolucyjne. Niektóre grupy bakterii mają znaczenie medyczne i/lub weterynaryjne. Jedną z grup stawonogów, które zasługują na szczególną uwagę w kontekście badań nad mikrobiomami, są ektopasożyty ptaków, roztocze dutkowe z rodziny Syringophilidae (Prostigmata). Dutkowce są interesujące z kilku powodów: *(i)* w większości populacji obserwuje się silnie zaburzoną proporcję płci (w kierunku płci żeńskiej), co sugeruje manipulację reprodukcyjną przy udziale bakterii endosymbiotycznych z rodzajów *Wolbachia* i/lub *Spiroplasma*; *(ii)* roztocze żywią się limfą lub krwią i mogą być dodatkowo suplementowane przez bakterie; ponadto, kontakt pasożytów z płynami ustrojowymi żywiciela może ułatwiać transmisję bakterii; *(iii)* cały cykl życia roztoczy realizuje się w obrębie izolowanej niszy (dutki), co umożliwia śledzenie procesów kofilogenetycznych w układzie ptaki-roztocze-bakterie. Celem niniejszych badań była analiza mikrobiomów dutkowców pasożytujących na ptakach wróblowych w Polsce. W oparciu o analizę sekwencji regionu V4 genu 16S rRNA dokonano detekcji bakterii endosymbiotycznych z rodzajów *Wolbachia* i *Spiroplasma*, jak również wielu innych grup bakterii, a wśród nich taksonów o potencjalnym znaczeniu epidemiologicznym.

The microbiome of the ectoparasitic mites of the family *Syringophilidae* (Acariformes: Prostigmata)

Microbiome is an essential component of the host organism. Bacterial communities provide animals with numerous benefits, such as essential nutrients and defense against pathogens but also affect mate choice and influence evolutionary features of their host. Some groups of bacteria have medical and/or veterinary importance, i.e. pathogens using hosts as vectors for spreading of diseases. In the light of the above, permanent bird parasites, such as quill mites (Prostigmata: Syringophilidae) demand attention for several reasons: (*i*) strongly female-biased sex ratio, suggesting a potential reproductive effect of *Wolbachia* or/and *Spiroplasma*; (*ii*) diet consisting of bird host subcutaneous tissue (lymph, blood) that may require bacterial suplementation. Furthermore, bird host fluids may facilitate bacterial transmission; (*iii*) tight associations with bird host enable investigating the spread of the bacterium and co-phylogenetic patterns. Here, we sequenced the V4 region of the 16S rRNA gene to investigate of microbiota of the quill mite species parasitizing passeriform birds in Poland. In addition to *Wolbachia*, which we reported earlier, the quill mites harbor another reproductive endosymbiont *Spiroplasma* as well as diverse and heterogeneous assemblage of bacterial communities, including taxa of medical and veterinary importance.

Charakterystyka molekularna i filogenetyczna szczepów *Bradyrhizobium* izolowanych z gleb lasów tropikalnych we wschodniej Nigerii

Agata Goryluk-Salmonowicz, Joanna Banasiewicz, Kamil Wachol, Tomasz Stępkowski

Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Bradyrhizobium jest dominującym rodzajem w obrębie bakterii brodawkowych, charakteryzującym się najszerszym spektrum zakażanych grup Fabaceae oraz największym stopniem zróżnicowania, przede wszystkim na obszarach tropikalnych i subtropikalnych. Obszary te, a w szczególności położone w pobliżu równika w Afryce należą do najsłabiej poznanych pod kątem występujących tam grup ryzobium. W niniejszej pracy poddano analizie filogenetycznej 66 szczepów *Bradyrhizobium* pochodzących z siedmiu próbek gleby pobranych w górskim-tropikalnym lesie deszczowym we wschodniej części Nigerii. W tym celu użyto siewek *Macroptilium atropurpureum* jako pułapek roślinnych. Wyizolowane i oczyszczone szczepy *Bradyrhizobium* poddano analizie filogenetycznej z zastosowaniem metody MLSA (ang. multilocus sequence analysis). Jako pierwszy marker genetyczny zastosowano gen metabolizmu podstawowego *recA,* a następnie analizowano gen symbiotyczny *nifD* kodujący podjednostkę alfa nitrogenazy. W oparciu o analizę sekwencji genów *recA* skonstruowano drzewo obrazujące filogenetyczne pokrewieństwo badanych szczepów, stosując metodę największej wiarygodności (ML ang. maximum likelihood). Na podstawie przeprowadzonych analiz wyodrębniono 10 grup, z których część wykazała pokrewieństwo do supergrupy *Bradyrhizobium japonicum* (grupa I, II, III i IV), a pozostałe do supergrupy *Bradyrhizobium elkanii*.

Molecular and phylogenetic characterization of *Bradyrhizobium* strains isolated from soil samples collected in tropical forest in eastern Nigeria

Bradyrhizobium is the dominant genus among root-nodule bacteria, characterized by the broadest spectrum of infected Fabaceae groups and the highest level of diversity, primarily in tropical and subtropical areas. These areas, in particular, those located near the equator in Africa, belong to the least studied concerning the root-nodule bacteria. In this study, *Bradyrhizobium* strains originating from root nodules of *Macroptilium atropurpureum* legume trap, grown in soils collected in mountain-tropical rainforest areas in the eastern part of Nigeria were characterized. The isolated and purified *Bradyrhizobium* cultures were subjected to phylogenetic analysis using the MLSA (multilocus sequence analysis) method. As a first genetic marker, housekeeping *recA* gene was amplified and sequenced. This step was followed by amplification and sequencing of the symbiotic *nifD* gene encoding the alpha-subunit of nitrogenase. Based on partial sequences of *recA* gene, a maximum likelihood method (ML) tree was inferred, illustrating the phylogenetic relationships among Nigerian B*radyrhizobium* isolates. These Nigerian isolates formed ten distinct groups, out of which four (groups I, II, III and IV) showed the affinity to *Bradyrhizobium japonicum* supergroup, whereas the remaining six (V-X) clustered within *Bradyrhizobium elkanii* supergroup.

Wpływ matrycy na identyfikację bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* metodą Real Time PCR

Joanna Bucka-Kolendo[1], Agnieszka Dekowska[1], Barbara Sokołowska[1]
[1]Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Prof. Wacława Dąbrowskiego w Warszawie, Zakład Mikrobiologii

Bakterie z rodzaju *Alicyclobacillus* stwarzają poważne problemy w przemyśle sokowniczym. Ich rozwój w dużej mierze zależy od rodzaju soku-matrycy. Obserwowano wysoką inhibicję wzrostu tych bakterii w sokach z czerwonych winogron, śliwek, żurawiny oraz koktajli i mieszanych sokach z jabłek/winogron/wiśni, jabłek/malin/winogron, jabłek/czerwonych winogron. Najpowszechniej stosowanymi metodami do wykrywania i oznaczania Alicyclobacillus spp. jest metoda IFU No 12. Jednakże ze względu na jej czasochłonność (do 14 dni), producenci poszukują nowych, szybszych rozwiązań oznaczania bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* w produktach. Podjęto próbę oznaczenia bakterii w różnych sokach przy różnych poziomach zanieczyszczenia metodą RealTime PCR oraz zestawem foodproof Alicyclobacillus Detection Kit (Biotecon Diagnostics). Wybrano 2 produkty (sok bezpośredni i zagęszczony sok czarnej porzeczki) naturalnie zanieczyszczone bakteriami Alicyclobacillus spp. (wstępnie inkubowane w dwóch temperaturach 45˚C i 50˚C) oraz 8 próbek kontaminowanych, w celu zbadania hamującego wpływu matrycy (bez wstępnej inkubacji). W soku i zagęszczonego soku z czarnej porzeczki, zaobserwowano hamowanie wzrostu bakterii, co uniemożliwiło ich identyfikację. Spośród 8 kontaminowanych próbek (sok z granata, granat+czarna porzeczka, granat+malina, malina, jarmuż, burak, nektar z czarnej porzeczki i zagęszczony sok z aronii) tylko zagęszczony sok z aronii wykazywał właściwości hamujące. Można zaobserwować wpływ czynników hamujących na wzrost drobnoustrojów, co mogło być przyczyną uzyskania wyników fałszywie negatywnych w próbkach soku i zagęszczonego soku z czarnej porzeczki oraz zagęszczonego soku z aronii. Jednak w przypadku soku z porzeczki, odnotowano znacznie szybszą możliwość identyfikacji bakterii (już po 2 dniach) z wykorzystaniem techniki RealTime PCR i zestawu do identyfikacji.

The effect of the matrix on the identification of bacteria from the *Alicyclobacillus* genus with the use of Real Time PCR method

Bacteria of *Alicyclobacillus* species can cause serious trouble in juice industry. They growth largely depends on the type of juice – the matrix. High growth inhibition of those bacteria has been observed in juices from red grapes, plums, cranberries and cocktails and mix juices from apple/grapes/cherries, apples/raspberry/grapes, apples/red grapes. The most often used method for identification purposes is IFU No 12. However, based that it is time-consuming method (14 days), the producers are looking for newer, faster ways to detect the *Alicyclobacillus* spp. bacteria in products. An attempt was made to determinate the bacteria in various juices and contamination levels, with the use of RealTime PCR method and a foodproof Alicyclobacillus Detection Kit (Biotecon Diagnostics). 2 products (blackcurrant juice and concentrate) naturally contaminated with Alicyclobacillus spp. bacteria (preincubated at two temperatures of 45ºC and 50ºC) and 8 samples contaminated, to investigate the inhibitory effect of the matrix (without preincubation) were selected for analysis. In the case of blackcurrant juice and concentrate, inhibitory effect of the matrix on the development and identification of *Alicyclobacillus* spp. was observed. From among 8 contaminated samples (pomegranate juice, pomegranate + black currant, pomegranate + raspberry, raspberry, kale, beetroot, black currant nectar and concentrate from chokeberry) only concentrate of chokeberry showed inhibitory properties. The influence of inhibitory factors on the growth of bacteria can be observe, which could have resulted in false negative results in samples of blackcurrant juice and concentrate and chokeberry concentrate. In the case of diluted currant juice, a significantly faster identification of bacteria (already after 2 days) using the RealTime PCR technique and the identification kit was observed.

Identyfikacja zbiorowisk bakterii przenoszonych przez kleszcze za pomocą sekwencjonowania metagenomu V4 16S rDNA

Justyna Liberska, Artur Trzebny, Mirosława Dabert

Wydziałowa Pracownia Technik Biologii Molekularnej, Wydział Biologii,
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Utrzymywanie się patogenów odkleszczowych w habitatach miejskich może wynikać ze zróżnicowania i fragmentacji środowiska i występowania dużej liczby małych zwierząt, które mogą być gospodarzami kleszczy. Celem pracy była szybka identyfikacja różnorodności bakterii ze wskazaniem na bakterie patogenne bądź potencjalnie chorobotwórcze występujące w kleszczach zebranych z terenów rekreacyjnych Poznania. W jednym podejściu przeskanowano 375 kleszczy zebranych z obszarów rekreacyjnych. Osobniki dorosłe badane były pojedynczo, a DNA form młodocianych łączono po 3 osobniki. Bakterie wykrywano przy użyciu uniwersalnych starterów amplifikujących rejon V4 16S rDNA i identyfikowano wykorzystując system Ion Torrent PGM oraz workflow V4 16S rRNA dostępny w programie Geneious R10. Ogółem w kleszczach zidentyfikowano bakterie należące do 254 rodzin, w tym chorobotwórczych należących do rodzajów *Anaplasma*, *Borrelia*, *Rickettsia* oraz *Bartonella*, a także nienotowane dotąd na terenie Poznania, *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis oraz *Diplorickettsia massiliensis*. Prezentowane wyniki wskazują, że zastosowana metoda identyfikacji różnorodności mikrobiologicznej umożliwia szerokie monitorowanie zoonoz bakteryjnych wektorowanych przez kleszcze bez konieczności żmudnych prac laboratoryjnych.

Detection of microbial diversity in ticks using V4 16S rDNA metagenome sequencing

Urbanized areas even may increase opportunities for transmission of zoonotic diseases due to higher temperatures and abundance of small and medium-sized mammals and birds participating in maintenance of tick populations and serving as reservoirs of tick-borne pathogens. The present study presents a rapid method for identification of potentially pathogenic bacterial species being members of bacterial communities associated with ticks. In a single assay, we screened 375 ticks collected in the city parks of Poznan; DNA samples extracted from adults were tested individually while larvae and nymphs were pooled by three. Bacterial diversity were assessed using V4 16S rDNA metagenome analysis. V4 regions were amplified using universal PCR primers and sequenced on Ion Torrent PGM system. Bacterial taxa were identified using a custom workflow in Geneious R10. In total, we found bacterial DNA representing 254 bacterial families, including genera pathogenic for humans, as *Anaplasma*, *Borrelia*, *Rickettsia*, and *Bartonella*, as well as unexpected bacterial pathogens in this area, *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis and *Diplorickettsia massiliensis*. Our method for screening of total bacterial DNA by the use of V4 16S rDNA metagenome sequencing allows for easier and broader monitoring of tick-borne pathogenic bacteria transmission risks.

Bakteriobiota powietrza w pomieszczeniach gabinetu weterynaryjnego

Krzysztof Frączek[1], Karol Bulski[1], Maria J. Chmiel[1], Anna Cendrowska[2]

[1]Katedra Mikrobiologii, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków
[2]Gabinet Weterynaryjny „Animals", Osiedle Dywizjonu 303 76, 31-875 Kraków

Ze względu na charakter pracy (leczenie zwierząt oraz opieka nad zwierzętami), badane środowisko jakim są gabinety weterynaryjne, może być zanieczyszczone pod względem mikrobiologicznym. W związku z tym gabinety weterynaryjne są placówkami, w których weterynarze, klienci i zwierzęta mogą być narażeni na szkodliwe czynniki biologiczne. Celem badań była ocena bakteriologicznej jakości powietrza w pomieszczeniach gabinetu weterynaryjnego, zlokalizowanego w Krakowie. Pomiary bioaerozolu, wewnątrz pomieszczeń oraz na zewnątrz budynku, wykonano w sezonie letnim 2017 roku. Do badań użyto 6-stopniowego impaktora Andersena. Najwyższe stężenie aerozolu bakteryjnego odnotowano w gabinecie zabiegowym. Odnotowano statystycznie istotne różnice w stężeniu aerozolu bakteryjnego pomiędzy środowiskiem wewnętrznym badanego gabinetu, a tłem zewnętrznym. Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono istotne różnice w stężeniach aerozolu bakteryjnego pomiędzy poszczególnymi punktami pomiarowymi, w zależności od czasu poboru próbek powietrza. Na podstawie analizy krzywej rozkładu ziarnowego stwierdzono, że największy „ładunek" bakterii może dotrzeć w układzie oddechowym człowieka do rejonu jamy ustnej, jamy nosowej, gardła, tchawicy i oskrzelików. W badanych pomieszczeniach dominującymi grupami mikroorganizmów były laseczki z rodzaju *Bacillus* oraz Gram-dodatnie ziarenkowce z rodzaju *Micrococcus* i *Staphylococcus*. Przeprowadzone badania potwierdzają, że gabinety weterynaryjne mogą być miejscami pracy związanymi z narażeniem na szkodliwe czynniki mikrobiologiczne.

Bacteriobiota of air at animal veterinary practice

Due to the nature of the work (animal treatment and care of animals) the environment of small animal veterinary practice can be contaminated by microorganisms. Therefore, veterinary practices are facilities, where veterinarians, clients and animals can be exposed to biological agents. The objective of the study was to characterize the bacteriological quality of air in small animal veterinary practice in Cracow. Bioaerosol measurements were performed during the summer season of 2017; outdoor and indoor air in small animal veterinary practice were analyzed, using a 6-stage Andersen`s air sampler. The highest concentration of bacterial aerosol was observed in the treatment room. There were statistically significant differences in the concentrations of bacterial aerosol between indoor and outdoor air. Also, the analysis showed that there were significantly higher airborne microbial loads in different rooms at different measuring times of the day. Based on the analysis of bioaerosol particle size distribution it was found that the largest "load" of bacteria, isolated form the air, can reach (in the human respiratory system) to the region of the nasal and oral cavity, throat and trachea, as well as bronchioles. In the indoor air, the predominant groups of microorganisms were rods of the *Bacillus* genus and Gram-positive cocci from the *Micrococcus* and *Staphylococcus* genus. The study confirmed that the small animal veterinary practice can be a workplace related to exposure to microbial agents.

Gatunki *Micromonospora* wyizolowane z gleb pustyni Atakama

Magdalena Świecimska[1], Magdalena Wypij[1], Lorena Carro[2], Michael Goodfellow[2],

Patrycja Golińska[1]

[1]Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
[2]School of Natural and Environmental Sciences, Newcastle University, Newcastle-upon-Tyne, UK

Nieliczne szczepy *Micromonospora* wyizolowano z gleb pobranych z dwóch lokalizacji w Cerro Chajnantor w pobliżu obserwatorium Atacama Large Millimeter Array (ALMA) na wschód od San Pedro de Atacama w Chile. Szczepy 4G51, 4G53, 4G55 i 4G57 pozyskano z gleb pobranych z lokalizacji ALMA 4, na wysokości 4000 m n.p.m., a izolat 5R2A7 z gleby pobranej z lokalizacji ALMA 5, na wysokości 5046 m n.p.m. Szczepy promieniowców wyizolowano wykonując posiew zawiesiny glebowej na podłożu Gauze 1 (szczepy z ALMA 4) i R2A (szczepy ALMA 5). Izolat 5R2A7 tworzył kolonie typowe dla *Micromonospora,* zaś szczepy pochodzące z ALMA 4 rosły nietypowo, tworząc suche, nitkowate kolonie, pokryte białą grzybnią powietrzną. Analizy sekwencji genu 16S rRNA wykazały, że izolaty 4G51, 4G53 and 4G57 tworzyły klad luźno związany z *Micromonospora costi*, zaś pozostałe szczepy 4G55 i 5R2A7 były najbliżej spokrewnione z odpowiednio *Micromonospora palomenae* i *Micromonosora coriariae.* Hybrydyzacja DNA/DNA oraz analizy właściwości fenotypowych wykazały, że szczepy 4G51 i 5R2A7 reprezentują nowe gatunki *Micromonospora*, tym samym wskazując, że gleby pustyni Atakama są źródłem nieznanych promieniowców. Genomy nowych izolatów zawierały potencjalnie nowe klastry genowe odpowiedzialne za syntezę związków biologicznie czynnych, wskazując że promieniowce rodzaju *Micromonospora*, pochodzące ze środowisk ekstremalnych powinny odgrywać większą rolę w programach poszukiwania nowych, bioaktywnych metabolitów.

Micromonospora species isolated from high altitude Atacama Desert soils

Small numbers of *Micromonospora* strains were isolated from two locations on Cerro Chajnantor below the site of the Atacama Large Millimeter Array (ALMA) observatory east of San Pedro de Atacama, Chile. The ALMA 4 strains (isolates 4G51, 4G53, 4G55 and 4G57) were collected at 4,000 metres and the ALMA 5 strain (isolate 5R2A7) from 5,046 metres by plating out soil suspensions onto Gauze's No 1 and R2A agar, respectively. The ALMA 4 strains were unusual as they formed dry, filamentous colonies covered by white aerial hyphae while the ALMA 5 strain produced typical micromonosporal - like colonies. 16S rRNA gene sequence analyses showed that isolates 4G51, 4G53 and 4G57 formed a clade that was loosely associated with the type strain of *Micromonospora costi*; the remaining strains, isolates 4G55 and 5R2A7, were most closely related to *Micromonospora palomenae* and *Micromonosora coriariae*, respectively. In silico digital DNA/DNA relatedness values and extensive phenotypic data clearly showed that isolates 4G51 and 5R2A7 represent new species of *Micromonospora* thereby showing that Atacama Desert soils are a rich source of novel filamentous actinobacteria. The genomes of the novel isolates were found to contain putatively new biosynthetic gene clusters adding to the view that micromonosporae from extreme habitats should feature more prominently in bioprospecting campaigns.

Studies were supported by grant No. 2017/01/X/NZ8/00140 from the National Science Centre (NCN), Poland

Różnorodność grzybów w długoletnim doświadczeniu mikropoletkowym

Jarosław Grządziel, Anna Gałązka

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, ul. Czartoryskich 8, Puławy, jgrzadziel@iung.pulawy.pl

Założone w 1881 roku w Puławach doświadczenie mikropoletkowe stanowi cenny obiekt doświadczalny dla wielu badań. W ośmiu odseparowanych blokach zebrane są różne typy gleb, charakterystyczne dla Polski, uprawiane w identyczny sposób. Do niedawna prowadzone na nich badania dotyczyły ogólnej liczebności bakterii i grzybów, produktywności roślin, analiz enzymatycznych czy właściwości fizykochemicznych samych gleb. Od roku 2016 w Zakładzie Mikrobiologii Rolniczej prowadzone są badania nad wpływem typu gleby na różnicowanie się składu mikrobiologicznego, z zastosowaniem nowoczesnych metod, takich jak sekwencjonowanie następnej generacji, co pozwoliło m.in. określić skład bakterii tworzących tzw. mikrobiom rdzeniowy, charakterystyczny dla danego typu gleby. Kolejnym etapem badań była analiza składu grzybów. Dominującymi dla gleb kwaśnych (rdzawe, brunatne dystroficzne) były m.in. grzyby z rodzaju *Talaromyces, Fusarium* i *Cladophialophora*, natomiast gleby dobre jakościowo były bogate w rodzaje *Plectosphaerella, Fusicolla i Tetracladium.* Stwierdzono że rodzaje takie jak *Mortierella, Solicoccozyma* czy *Mycosphaerella* występują we wszystkich glebach w podobnych ilościach, niezależnie od typu i jakości gleby.

Fungal biodiversity in long-term microplot experiment

The microplot experiment, established in 1881 in Puławy, is a valuable experimental facility for many studies. In eight separated blocks different soil types, characteristic for Poland, are collected and cultivated in the same way. To date, research was focused on the total number of bacteria and fungi, plant productivity, enzymes activity and physicochemical properties of the soils themselves. Since 2016, the Department of Agricultural Microbiology has been conducting research on the influence of soil type on the differentiation of microbiological composition, using modern methods, such as the next generation sequencing, which allowed, to determine the composition of bacteria forming soil core biome, characteristic for a given soil type. The next stage of the study was the analysis of fungi composition. Acidic soils (brunic arenosols, haplic cambisols) were dominated by fungi of the genera *Talaromyces*, *Fusarium* and *Cladophialophora*, while good soils were rich in the *Plectosphaerella*, *Fusicolla* and *Tetracladium*. Genera such as *Mortierella*, *Solicoccozyma* and *Mycosphaerella* were found to be present in all soils in similar quantities, irrespective of soil type and quality.

The research was conducted within the statutory activity of IUNG-PIB (1.20) and the frames of Task 1.4. Evaluation and formation of biodiversity of soil and microbial activity of soil with regard to habitat conditions and management system. Multi – Annual Programme IUNG – PIB.

Izolacja i identyfikacja rizobiowych i nie-rizobiowych szczepów bakteryjnych zasiedlających brodawki korzeniowe zwyczajnego *Laburnum mesenteroides*

Monika Elżbieta Jach[1], Ewa Sajnaga[2]
[1]Katedra Biologii Molekularnej, Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, ul. Konstantynów 1I, 20-708 Lublin
[2]Laboratorium Biokontroli, Produkcji i Aplikacji EPN, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

Laburnum anagyroides Medik. złotokap zwyczajny to popularny w Polsce krzew ozdobny należący do rodziny bobowatych. Wchodząc w symbiozę z bakteriami glebowymi nazywanymi rizobiami, roślina ta ma zdolność tworzenia brodawek korzeniowych, w których zachodzi wiązanie azotu atmosferycznego przez bakterie. Z brodawek korzeniowych *L. anagyroides* rosnących na terenie Polski południowo-wschodniej wyizolowano 25 szczepów bakteryjnych, które poddano identyfikacji molekularnej i charakterystyce fenotypowej. Analiza sekwencji genu 16S rRNA wykazała że badane izolaty należą w większości do rodzaju *Bradyrhizobium* (18 szczepów), zaś pozostałe do rodzajów *Tardiphaga*, *Paracoccus*, *Peanibacillus* i *Variovorax*. Dokładną pozycję taksonomiczną mikrosymbiontów złotokapu zwyczajnego określono w oparciu o analizę sekwencji czterech genów: *atpD, recA, dnaK* i *glnII*. Wykazała ona, że badane bradyrizobia są najbliżej spokrewnione z *Bradyrhizobium icense, Bradyrhizobium paxllaeri, Bradyrhizobium jicamae, Bradyrhizobium lablabi, Bradyrhizobium retamae* i *Bradyrhizobium valentinum,* aczkolwiek tworzą oddzielną gałąź na drzewie filogenetycznym. Uzyskane wyniki świadczą o tym, że bradyrizobia wraz ze szczepami nie będącymi rizobiami zasiedlają wspólnie brodawki korzeniowe złotokapu zwyczajnego, tworząc złożony fitomikrobiom, który prawdopodobnie ma znaczny wpływ na zachowanie i kondycję rośliny gospodarza.

Rhizobial and non-rhizobial bacteria residing within the common laburnum (*Laburnum mesenteroides*) nodules

Laburnum anagyroides Medik, common laburnum, is a popular in Poland, decorative, shrub belonging to the family *Fabaceae.* In symbiotic association with soil bacteria known as rhizobia, plant of this species has an ability to form root nodules which allows bacteria to assimilate atmospheric nitrogen. Twenty five bacterial strains were isolated from root nodules of *L. anagyroides* grown in south-eastern Poland. These strains were molecularly identified and phenotypically characterised. Sequence analysis of 16S rRNA gene showed that the isolates belong mostly to the genus *Bradyrhizobium* (18 strains), while the others belong to the genus: *Tardiphaga*, *Paracoccus*, *Peanibacillus* and *Variovorax.* Detailed taxonomic position of cammon laburnum microsymbionts was assessed based on analyses of four loci: *atpD, recA, dnaK* i *glnII*. It showed that the tested bradyrhizobia are phylogenetically closest to *Bradyrhizobium icense, Bradyrhizobium paxllaeri, Bradyrhizobium jicamae, Bradyrhizobium lablabi, Bradyrhizobium retamae,* and *Bradyrhizobium. valentinum*; however they constitute the distinct cluster on the phylogenetic tree. Our research indicates that bradyrhiobia and other bacteria, which are not rhizobia are resident within root nodules of laburnum, forming complex phytomicrobiome, which are likely to affect the behavior and fitness of the host plant.

Występowanie, identyfikacja gatunkowa i oporność na antybiotyki gronkowców z pomieszczeń Rolniczego Centrum Kształcenia Ustawicznego w Czernichowie

Anna Lenart-Boroń, Justyna Chrobak, Dagmara Drab, Iwona Hryniewicz

Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Stężenie bioaerozolu gronkowcowego zbadano w sześciu budynkach RCKU w Czernichowie, w czterech porach roku, przy pomocy 6-stopniowego impaktora Andersena i podłoża Chapmana. Identyfikację gatunkową 35 izolatów gronkowców przeprowadzono techniką MALDI-TOF, oporność na antybiotyki antybiogramu podstawowego i wybrane z rozszerzonego zbadano techniką dyfuzyjno-krążkową. Najwyższe stężenie bioaerozolu stwierdzano w cielętniku zimą, latem i jesienią oraz w oborze zimą i jesienią. Najmniejsze stężenie gronkowców obserwowano jesienią w stajni i na hali sportowej. Najczęściej identyfikowanymi gatunkami gronkowców były *Staphylococcus equorum* (34,3%) i *S. succinus* (25,7%). Nie stwierdzono obecności gronkowców chorobotwórczych, jedynie *S. saprophyticus* (n=1) jest patogenem oportunistycznym. Badanie lekooporności gronkowców wykazało, że jeden szczep (*S. vitulinus*) był metycylinooporny. Najczęściej stwierdzano oporność na erytromycynę (36,4%), a następnie na klindamycynę (30,3%). Nie zaobserwowano szczepów opornych na trimetoprim/sulfametoksazol. Jeden z izolatów (*S. xylosus*) pochodzący z cielętnika był oporny na 4 z siedmiu badanych antybiotyków. Jednak największy udział miały szczepy wrażliwe na wszystkie testowane antybiotyki (42,4%). Badania nie wykazały ewidentnych zagrożeń zdrowotnych dla osób przebywających w badanych pomieszczeniach. Wysokie stężenia gronkowców w powietrzu pomieszczeń gospodarskich wynikają ze specyfiki ich użytkowania.

Occurrence, species identification and antibiotic resistance of staphylococci isolated from the premises of the RCKU Agricultural Center of Continuous Learning in Czernichów

The concentration of staphylococcal bioaerosol was analyzed in six buildings of the RCKU in Czernichów, in four seasons of the year, using a six-stage Andersen impactor and Chapman medium. Species identification of 35 isolates of staphylococci was carried out using the MALDI-TOF mass spectrometry and the resistance to antibiotics of basic antibiogram and the selected ones from extended antibiogram was tested using a disk-diffusion technique. The highest concentrations of bioaerosol were found in the calves-house in winter, summer and autumn. The smallest concentration of airborne staphylococci was observed in autumn in the stable and sports hall. *Staphylococcus equorum* and *S. succinus* (25.7%) were the most frequently isolated species. No pathogenic staphylococci were found, except from *S. saprophyticus* (n=1) which is an opportunistic pathogen. Antimicrobial resistance testing of staphylococci showed that only one strain (*S. vitulinus*) was methicillin resistant. The resistance to erythromycin was most frequently detected (36.4%), followed by clindamycin (30.3%). There were no strains resistant to trimethoprim/sulfamethoxazole. One of the isolates (*S. xylosus*) derived from the calves-house was resistant to 4 of the seven antibiotics tested. However, the highest share was observed for the strains susceptible to all tested antimicrobials (42.4%). The conducted research did not show any obvious health risks for people staying in the examined premises. High concentrations of airborne staphylococci in the farm premises result from the specificity of their use.

.

Synteza fitohormonów i aktywność deaminazy-ACC szczepów z rodzaju *Mortierella*

Ewa Ozimek[1], Jolanta Jaroszuk-Ściseł[1], Justyna Bohacz[2], Teresa Korniłłowicz-Kowalska[2], Agnieszka Hanaka[3], Małgorzata Majewska[1], Renata Tyśkiewicz[1], Artur Nowak[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii,
[3]Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii i Biochemii,Wydział Biologii i Biotechnologii,
Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin;
[2]Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, Pracownia Mikologiczna, Wydział Agrobioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Kwas indolilo-3-octowy (IAA), kwas giberelinowy (GA) oraz deaminaza-ACC degradująca bezpośredni prekursor etylenu – ACC, należą do regulatorów wzrostu roślin syntetyzowanych przez rośliny jak również przez wiele mikroorganizmów glebowych. Zbadano aktywności deaminazy-ACC szczepów *Mortierella verticillata* DEM 32 (MV DEM 32) i *Mortierella antarctica* DEM 7 (MA DEM 7), a także ich zdolność do syntezy fitohormonów – IAA i GA. Hodowle szczepów *Mortierella* na zmodyfikowanym podłożu płynnym Czapek-Dox: (1) bez prekursora syntezy IAA tryptofanu -CDM; (2) z 250µg Trp/mL -CDM_{250} oraz (3) z 500µg Trp/mL -CDM_{500} inokulowano homogenatem grzybni o liczebności ($1 \bullet 10^5$ jtk/mL) i inkubowano w 9^0C, 15^0C i 20^0C. Pomiar stężenia fitohormonów i aktywność deaminazy-ACC określano w płynach pohodowlanych po 1., 3., 5., 7. i 9. dniu inkubacji. Stężenie IAA w hodowlach badanych szczepów było skorelowane z początkowym stężeniem Trp i były najwyższe w 7. i 9. dniu inkubacji. Jedynie w hodowli szczepu MV DEM 32 na podłożu CDM_{250} w 15^0C oznaczono wyższe stężenie IAA niż to oznaczone w hodowli na podłożu CDM_{500}. Natomiast zdolność do syntezy GA stwierdzono już po 24 godzinach w hodowlach obydwu badanych szczepów *Mortierella*, a najwyższe stężenie fitohormonu oznaczono w 9-dniowych płynach po hodowli szczepu MV DEM 32 w 20^0C i wynosiło ono około 3 µg GA/mL^{-1}. Aktywność deaminazy-ACC wykazywał jedynie szczep MA DEM 7.

The synthesis of phytohormones and ACC-deaminase activity of *Mortierella* strains

The indolilo-3-acetic acid (IAA), gibberellic acid (GA) and ACC-deaminase degrading plant hormone ethylene are plant growth regulators synthesized by plants as well as for many soil microorganisms. The ability of *Mortierella verticillata* DEM 32 (MV DEM 32) and *Mortierella antarctica* DEM 7 (MA DEM 7) to synthesize ACC-deaminase and phytohormones was tested. The cultures of *Mortierella* strains were grown on Chapek-Dox modified liquid media, (1) without tryptophan (Trp ethylene precursor)-CDM; (2) with 250µgTrp/ml -CDM_{250}, and (3) with 500µg Trp/ml -CDM_{500} inoculated with homogenate of mycelia (about $1 \bullet 10^5$ cfu/mL) and incubated at 9^0C, 15^0C and 20^0C. The phytohormones concentration and ACC-deaminase activity were measured in 1., 3., 5., 7. and 9. days filtrates of fungal cultures. It was found that the concentration of IAA in *Mortierella* cultures was correlated with the initial concentration of Trp, and the highest amount of IAA was measured after 7. and 9 day of incubation. Although MV DEM 32 strain incubated at 15^0C on CDM_{250} medium synthesized higher amount of IAA than on the Chapek-Dox medium with higher initial dose of Trp (CDM_{500}). Both *Mortierella* strains started synthesizing GA after 24 hours of incubation with the highest concentration of phytohormone in 9. days culture of MV DEM 32 in 20^0C (about 3 µg GA/mL^{-1}). Only MA DEM 7 strain has the ACC-deaminase activity.

Praca naukowa finansowana z projektu NCN Miniatura 1 - nr 2017/01/X/NZ9/00837

Przynależność gatunkowa i aktywność metaboliczna szczepów *Mortierella*

Ewa Ozimek[1], Jolanta Jaroszuk-Ściseł[1], Justyna Bohacz[2], Teresa Korniłłowicz-Kowalska[2], Agnieszka Hanaka[3], Małgorzata Majewska[1], Anna Słomka[1], Artur Nowak[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii,
[3]Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii i Biochemii,Wydział Biologii i Biotechnologii,
Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin;
[2]Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, Pracownia Mikologiczna, Wydział Agrobioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Identyfikację gatunkową dwóch izolatów pochodzących z gleb Spitzbergenu przeprowadzono z wykorzystaniem metod klasycznych określając cechy makroskopowe: wielkość, barwę (rewers, awers) i strukturę kolonii (w tym obecność koncentrycznych płatów lub pasów). Cechy mikroskopowe oceniane w mikrokulturach to: kształt i wielkość trzonków zarodnionośnych, zarodni i zarodników, obecność i morfologia chlamydospor. Tradycyjne metody identyfikacji oparte o cechy morfologiczne, nie pozwalają na jednoznaczne oznaczenie taksonomiczne szczepów, które nie zarodnikują w warunkach laboratoryjnych. Identyfikacja gatunkowa na podstawie sekwencji ITS1, ITS4 rRNA wykazała, że otrzymane sekwencje nukleotydów charakteryzowały się 100% podobieństwem i pokryciem sekwencji do dwóch gatunków: *Mortierella antarctica* i *Mortierella verticillata*. Do oceny profilu metabolicznego szczepów *M. antarctica* DEM 7 i *M. verticillata* DEM 32 wykorzystano system Biolog FF MicroPlate. Po 7 dniach inkubacji w 20^0C szczep MA DEM 7 wykazywał wysoki poziom kataboliczny większości analizowanych związków. Ponadto na podłożu PDA średnice kolonii szczepów MA DEM 7 i MV DEM 32, inkubowanych w: 4^0C, 9^0C, 15^0C jak i 20^0C, w 7. dniu powiększyły się o ponad 60 mm, natomiast po tym samym czasie inkubacji w 28^0C średnice kolonii szczepów były ponad 10-krotnie mniejsze. Wykazano zdolność szczepów *Mortierella* do uruchamiania fosforu z jego nieorganicznych form podczas wzrostu na podłożach z: fosforanem wapnia, fosforanem cynku i hydroksyapatytem w 9^0C, 15^0C i 20^0C, ponadto szczep MA DEM 7 syntezuje związki kompleksujące Fe^{+3}.

The taxonomic classification and metabolic activity of *Mortierella* strains

The morphological identification of pure cultures of isolates from the Spitzbergen soils to the genus and species level was accomplished using established procedures including macroscopic characteristics, we determined: colony size; colony structure (the presence of concentric petals or stipes). The microscopic observations were conducted in microcultures, we considered the phenotypic traits: shape and size of sporangiophores, sporangia and sporangiospores, the presence and morphology of chlamydospores. It is very difficult to identify the species, which fail to reproduce under normal laboratory conditions, considering only morphological traits. Fungal species were identified using ITS1, ITS4 region sequencing method. The ITS sequence of the isolates was 100% identical to the *Mortierella antarctica* and *Mortierella verticillata* deposited in NCBI culture collection. We used the Biolog FF MicroPlate for substrate utilization profile of *Mortierella* strains. The MA DEM 7 strain represented high catabolic level of most analyzed compounds at 7^{th} day of inoculation in 20^0C. The diameters of fungal colonies growing on PDA medium at 4^0C, 9^0C, 15^0C and 20^0C after 7 days were over 60 mm wider, at the same time of incubation at 28^0C the diameters of fungal colonies were ten-fold smaller. *Mortierella* strains: MA DEM 7 and MV DEM 32 are also able to solubilize calcium phosphate, zinc phosphate and hydroxyapatite at 9^0C, 15^0C and 20^0C. *Mortierella antarctica* DEM 7 strain synthetizing iron-chelating ligands.

Praca naukowa finansowana z projektu NCN Miniatura 1 - nr 2017/01/X/NZ9/00837

Profil kwasów tłuszczowych mikrocyklicznych grzybów rdzawnikowych

Agata Wołczańska[1], Magdalena Kolibska[2], Magda Mamczarz[1], Marta Palusińska-Szysz[2]

[1]Zakład Botaniki i Mykologii, Instytut Biologii i Biochemii UMCS, Akademicka 19, 20-033 Lublin
[2]Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii UMCS, Akademicka 19, 20-033 Lublin

Grzyby rdzawnikowe (Pucciniales) to wyspecjalizowane pasożyty roślin. Cechuje je skomplikowany cykl życiowy związany często ze zmianą żywicieli i tworzeniem wielu (nawet pięciu) różnych rodzajów zarodników. Dotąd opisano siedem różnych typów cyklu życiowego tych grzybów. Najprostszy mają gatunki mikrocykliczne które produkują zazwyczaj tylko teliospory i bazydiospory (bardzo rzadko tworzą spermacja). Sprzyja to ich rozprzestrzenianiu się (gatunki inwazyjne) i ułatwia przetrwanie w skrajnie niekorzystnych środowiskach (gatunki arktyczno-alpejskie). *Puccinia malvacearum* to gatunek inwazyjny, tworzący na liściach roślin z rodziny *Malvaceae*, brązowoczarne telia. Celem badań była jakościowa i ilościowa analiza składu kwasów tłuszczowych teliospor *P. malvacearum* przeprowadzona za pomocą chromatografii gazowo-cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GLC/MS). Zarodniki *P. malvacearum* zawierały 25 różnych kwasów tłuszczowych zarówno nienasyconych jak i nasyconych o prostym i rozgałęzionym łańcuchu, hydroksy kwasów, dikarboksylowych oraz alkohol tłuszczowy. Wśród nasyconych kwasów dominowały: C16:0 i 18:0, które stanowiły około połowy wszystkich zidentyfikowanych kwasów. Teliospory charakteryzowały się wysoką (30%) zawartością hydroksy (2-hydroksy, 9-hydroksy, 26-hydroksy) kwasów, wśród których dominował 9-hydroxy 17:0 kwas tłuszczowy (13.9%). Na uwagę zasługuje również występowanie dwóch rzadko spotykanych w przyrodzie długołańcuchowych kwasów: 1,24-24 dikarboksylowego i 1,26-26 dikarboksylowego. Mogą być one ważnymi chemotaksonomicznymi markerami *P. malvacearum*.

Fatty acid profile of microcyclic rust fungi

Rust fungi (Pucciniales) are specialized parasites of plants. The have a complicated life cycle often connected with changing the host and formation of many (even five) types of spores. Seven different types of their life cycle have been described so far, with the simplest characteristic for microcyclic species. They produce usually only teliospores and basidiospores (very rarely - spermatia). This promotes their spread (invasive species) and facilitates survival in extremely unfavorable environments (arctic-alpine species). *Puccinia malvacearum* is an invasive species that forms brown-black telia on the leaves of plants from the *Malvaceae* family. The aim of the study was to carry out qualitative and quantitative analysis of the fatty acid composition of *P. malvacearum* with the help of gas-liquid chromatography coupled with mass spectrometry (GLC/MS). The spores of *P. malvacearum* contained 25 different fatty acids both saturated and unsaturated with a straight and branched chain, hydroxy acids, dicarboxylic acids, and fatty alcohol. C16:0 and 18:0, which accounted for approximately half of all identified acids, dominated among saturated fatty acids. The teliospores were characterized by high (30%) content of hydroxy (2-hydroxy, 9-hydroxy, 26-hydroxy) acids, among which 9-hydroxy 17:0 fatty acid dominated (13.9%). Also noteworthy is the occurrence of two long-chain acids rarely found in nature: 1.24-24 dicarboxylic and 1.26-26 dicarboxylic acids. They can be important chemotaxonomic markers of *P. malvacearum*.

Kwasy tłuszczowe jako markery diagnostyczne fitopatogennych grzybów mączniakowych

Marta Palusińska-Szysz[1], Agata Wołczańska[2], Magdalena Kolibska[1], Sylwia Wdowiak[1]

[1]Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii UMCS, Akademicka 19, 20-033 Lublin
[2]Zakład Botaniki i Mykologii, Instytut Biologii i Biochemii UMCS, Akademicka 19, 20-033 Lublin

Grzyby mączniakowe należą do grupy mikroskopijnych fitopatogenów, które pokrywają rośliny białym nalotem złożonym ze strzępek grzybni, trzonków i zarodników konidialnych oraz owocników. Są obligatoryjnymi pasożytami – nie zabijają swoich żywicieli, ale przy masowym porażeniu osłabiają rośliny i mogą być przyczyną poważnych strat w uprawach. Przy wykorzystaniu techniki chromatografii gazowo-cieczowej sprzężonej ze spekrometrią mas analizowano jakościowy i ilościowy skład kwasów tłuszczowych grzybów tworzących grzybnię zewnętrzną (*Golovinomyces sordidus* na *Plantago major, Erysiphe flexuosa,* na *Aesculus hippocastanum*, *Erysiphe convolvuli* na *Convolvulus arvensis*) i wewnętrzną (*Phyllactinia guttata* na *Corylus avellana*). Wszystkie gatunki cechuje duża heterogenność profilu kwasów tłuszczowych. Badane grzyby syntetyzowały kwasy tłuszczowe o długości łańcucha od 8 do 32 atomów węgla w cząsteczce. Spośród nasyconych kwasów tłuszczowych u grzybów z rodzaju *Golovinomyces* i *Erysiphe* dominowały kwasy: C20:0, C18:0 i C16:0, natomiast u *Phyllactinia guttata* C16:0, C18:0, C24:0 i C22:0. Gatunki z rzędu Erysiphales, z wyjątkiem *G. sordidus* charakteryzowały się wysoką zawartością różnych alkoholi tłuszczowych (*E. convolvuli* 7,5%, *E. flexuosa* 6,4% i *P. gutatta* 5,8%). Każdy z badanych grzybów mączniakowych syntetyzował charakterystyczny dla danego gatunku alkohol tłuszczowy. Profil kwasów tłuszczowych grzybów mączniakowych może zostać wykorzystany jako ważna cecha diagnostyczna nie tylko na poziomie rodzaju, ale również i gatunku.

Fatty acids as diagnostic markers of phytopathogenic powdery mildew fungi

Powdery mildews belong to the group of microscopic phytopathogenic fungi which form white, powdery coating consisting of mycelial hyphae, conidiophores, conidia, and ascocarps on infected plants. They are obligatory parasites – they do not kill their hosts, but in severe infection can reduce the growth and yield of plants. Using the gas-liquid chromatography technique coupled with mass spectrometry, the qualitative and quantitative composition of fatty acids forming the outer (*Golovinomyces sordidus* on *Plantago major*, *Erysiphe flexuosa*, *Aesculus hippocastanum*, *Erysiphe convolvuli* on *Convolvulus arvensis*) and internal (*Phyllactinia guttata* on *Corylus avellana*) mycelium was analyzed. All species are characterized by high heterogeneity of the fatty acid profile. The fungi examined synthesized fatty acids with a chain length from 8 to 32 carbon atoms in the molecule. The following saturated fatty acids dominated in the fungi of the genus *Golovinomyces* and *Erysiphe*: C20: 0, C18: 0, and C16: 0, whereas C16: 0, C18: 0, C24: 0, and C22: 0 were dominant in *Phyllactinia guttata*. Species from the order Erysiphales, with the exception of *G. sordidus*, were characterized by a high content of various fatty alcohols (*E. convolvuli* 7.5%, *E. flexuosa* 6.4%, and *P. gutatta* 5.8%). Each of the mildew fungi studied synthesized a fatty alcohol characteristic for the species. The fatty acid profile of mildew fungi can be used as an important diagnostic feature not only at the level of the genus, but also the species.

Dynamika metaboliczna i charakterystyka *Cerrena unicolor* w warunkach hodowli SSF na podłożu z trocin brzozowych

Anna Pawlik[1], Grzegorz Janusz[1], Magdalena Frąc[2]

[1]Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
[2]Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej, Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk

Cerrena unicolor (gmatkówka szarawa) jest grzybem białej zgnilizny drewna o dużym znaczeniu ekologicznym i biotechnologicznym. Pomimo tego wiedza dotycząca charakterystyki fenotypowej tego grzyba oraz wpływu warunków środowiska na metabolizm *C. unicolor* jest dość niewielka. Celem niniejszej pracy była analiza profilu metabolicznego *C. unicolor* FCL139 w warunkach hodowli stacjonarnej na podłożu z trocin brzozowych. Badania obejmowały ocenę aktywności metabolicznej *C. unicolor* pod kątem uzdolnień do degradacji 190 różnych źródeł węgla i energii w oparciu o wykorzystanie technologii Mikromacierzy Fenotypowych Biolog. Przeprowadzona analiza wykazała duże zróżnicowanie uzyskanych profili metabolicznych w obrębie badanych grup substratów. Analiza proporcji pomiędzy poszczególnymi grupami związków rozkładanych przez *C. unicolor* wykazuje zdolność tego grzyba do metabolizowania poszczególnych grup w miarę równych proporcjach. Jednakże polimery okazały się być grupą związków najchętniej rozkładanych przez *C. unicolor*. Najwyższe aktywności kataboliczne wykazano 7 dnia hodowli. Największe tempo wzrostu grzyba zaobserwowano gdy rafinoza, arbutyna, lakcitol (węglowodany), laminaryna, dekstryna, glikogen (polimery), kwas sebacynowy i sukcynamowy (kwasy karboksylowe) stanowiły jedyne źródło węgla.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/09/B/NZ9/01829 oraz DEC-2014/15/B/NZ9/01990.

Metabolic dynamics and characteristics of *Cerrena unicolor* cultivated in SSF conditions on birch sawdust substrate

Cerrena unicolor, commonly known as a mossy maze polypore, is a wood-degrading basidiomycete with ecological and biotechnological importance. Although genomic and transcriptomic analysis has provided new insights into *C. unicolor* ligninocellulose degradation, the knowledge related to its phenotypic characterization and the effect of environmental conditions on fungal metabolism has not been studied. Here we report analysis of the metabolic profile of *C. unicolor* FCL139 cultivated in SSF (solid-state fermentation) conditions on a birch sawdust substrate. Biolog Phenotype MicroArray (PM) technology was applied to obtain data on utilization of 190 carbon and energy sources and mitochondrial activity of *C. unicolor* precultivated on a birch sawdust medium during 10 days of incubation. The analysis revealed a broad variability of a substrate utilization profiles within the studied groups of compounds. There was no clear correlation in metabolic preferences of the fungus to a particular group of substrates. However, polymers constitute a group of the most easily metabolized carbon sources. The highest catabolic activities were exhibited on the 7th day of incubation. The highest growth rate of the fungus was observed when raffinose, arbutin, lactitol (carbohydrates), laminarin, dextrin, glycogen (polymers), sebacic and succinamic acids (carboxylic acids) were the sources of energy.

This work was supported by the National Science Centre (Poland) based on the decision number DEC-2013/09/B/NZ9/01829 and DEC-2014/15/B/NZ9/01990.

Molekularna identyfikacja szczepu *Citrobacter* wyizolowanego z jelita chrabąszcza majowego o zdolnościach antagonistycznych w stosunku do bakterii entomopatogenicznych

Ewa Sajnaga, Marcin Skowronek, Waldemar Kazimierczak, Magdalena Lis

Laboratorium Biokontroli, Aplikacji i Produkcji EPN, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

Bakterie entomopatogeniczne (EPB) *Xenorhabdus* spp. i *Photorhabdus* spp. wchodzące w mutalistyczną symbiozę z nicieniami z rodzajów *Steinernema* i *Heterorhabditis* są letalnymi parazytoidami owadów żerujących w glebie. Nicienie, bakterie i porażany owad stanowią skomplikowany układ, będący przedmiotem licznych badań dotyczących m.in. mechanizmów patogenezy, odporności owadów czy aspektów ekologicznych. Jednakże, interakcje między EPB i bakteriami jelitowymi owada nie zostały do tej pory poznane. W pierwszym etapie badań wyizolowano liczne czyste kultury bakteryjne z jelita środkowego larwy chrabąszcza majowego (*Melolontha melolontha*), a następnie zbadano je pod względem hamowania wzrostu 5 gatunków EPB. Spośród kilku wyselekcjonowanych szczepów o silnych właściwościach antagonistycznych wobec EPB, jeden (MTA1) poddano identyfikacji molekularnej. Zastosowano metodę MLSA (multilocus sequence analysis). Analiza sekwencji pięciu genów: 16S rDNA, *fusA*, *pyrG*, *rpoB* i *leuS* wykazała, że badany izolat jest najbardziej spokrewniony filogenetycznie z *Citrobacter murliniae* CIP 104556^T i prawdopodobnie należy do tego samego gatunku. Przeprowadzone przez nas badania wskazują, że bakterie rodzaju *Citrobacter* zasiedlające jelito owada oddziaływują antagonistycznie w stosunku do EPB, co wydaje się być istotnym elementem obronnym owada przed infekcją.

Molecular identification of a *Citrobacter* strain isolated from cockchafer gut with antagonistic action against enthomopathogenic bacteria

Entomopathogenic bacteria *Xenorhabdus* spp. and *Photorhabdus* spp. (EPB) entering mutualistic symbiosis with nematodes from the genus *Steinernema* and *Heterorhabiditis* are lethal parasids of soil dwelling insects. Nematodes, bacteria, and an infected insect constitute a complex, which is the subject of intensive research, including the mechanisms of pathogenesis, insect immunity, and ecological aspects. However, the interaction between the gut-associated bacteria of insects and EPB remains unknown. In the first stage of the research, many bacterial cultures were isolated from the midgut of the cockchafer (*Melolontha melolontha*) and examined for inhibition of the growth of five EPB strains. Among the several strains exhibiting strong antimicrobial activity against EPB, one of them (MTA1) was further identified molecularly with the MLSA method (multilocus sequence analysis). Sequence analysis of five genes: 16S rDNA, *fusA*, *pyrG*, *rpoB*, and *leuS* showed that the analyses isolate is phylogenetically closest to *Citrobacter murliniae* CIP 104556^T and probably belongs to the same species. Our research indicates that bacteria from the genus *Citrobacter* exert antagonistic action against EPB, which seems to be an important mechanism of defense against infection.

Izolacja i identyfikacja molekularna szczepów z rodzaju *Cercospora* z próbek środowiskowych

Urszula Świderska-Burek[1], Grzegorz Janusz[2]

[1]Zakład Botaniki i Mykologii, Uniwersytet Marii-Curie Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin
[2]Zakład Biochemii, Uniwersytet Marii-Curie Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Grzyby z rodzaju *Cercospora* reprezentują jedną z największych pod względem liczby gatunków grupę grzybów (grzyby cerkosporoidalne) należących do *Mycosphaerellaceae* (Capnodiales, Ascomycota). Grzyby te są ważnymi patogenami upraw rolnych powodującymi powstawanie nekrotycznych plam na liściach, które przy silnym porażeniu prowadzą często do obumierania całych organów. Powoduje to zmniejszenie intensywności fotosyntezy i niekorzystne zmiany w przemianie materii roślin żywicielskich, co prowadzi do obniżenia plonów. Tradycyjna identyfikacja fenotypowa sprawia wciąż wiele trudności, dlatego korzystną alternatywą są metody oparte na badaniach DNA. Badania nad grzybami z rodzaju *Cercospora* obejmowały hodowlę gatunków pozyskanych bezpośrednio ze środowiska naturalnego na podłożach MEA i PDA, izolację DNA z hodowli płynnej na podłożu Lindeberg i Holm oraz identyfikację gatunkową na podstawie analizy sekwencji wewnętrznych regionów niekodujących (ITS) w oparciu o dane zamieszczonymi w bazie GenBank. Zoptymalizowano ponadto proces pozyskiwania próbek środowiskowych bezpośrednio z liścia rośliny żywicielskiej oraz amplifikacji sekwencji ITS przy pomocy zestawu Terra PCR Direct Polymerase Mix (Clontech, Mountain View, CA). Uzyskane wyniki pozwoliły na potwierdzenie przynależności gatunkowej grzybów z rodzaju *Cercospora* oznaczonych wcześniej metodą klasyczną zarówno z wyhodowanych szczepów, jak również szybszą metodą z użyciem gotowych zestawów. Opracowana w ten sposób metoda znacznie skraca czas identyfikacji molekularnej patogenów grzybowych roślin istotnych w uprawach rolnych.

Isolation and molecular identification of strains from the genus *Cercospora* from environmental samples

The genus *Cercospora* represents one of the most species-rich group of fungi (cercosporoid fungi) belonging to *Mycosphaerellaceae* (Capnodiales, Ascomycota). They are important pathogens of major agriculture crops causing necrotic spots on leaves, which frequently lead to the death of whole organs at severe infection. This reduces the intensity of photosynthesis and induces adverse changes in the metabolism of host plants, which results in lower yields. Traditional phenotypic identification still causes many difficulties, while DNA-based methods are a good alternative. The investigations of fungi from the genus *Cercospora* included cultivation of species obtained directly from the natural environment on the culture media MEA and PDA, DNA isolation from liquid culture on the Lindeberg and Holm medium, and species identification based on analysis of the internal transcribed spacer (ITS) based on data available in the GenBank. Furthermore, the process of acquisition of environmental samples directly from the host plant leaf and the ITS sequence amplification was optimized using the Terra PCR Direct Polymerase Mix kit (Clontech, Mountain View, CA). The obtained results confirmed the species affiliation to the fungi of the genus *Cercospora*, which were previously determined with the classical method from cultured strains and with a faster method with the use of ready-made kits. The method developed in this way significantly shortens the time of molecular identification of fungal pathogens of important agricultural crop plants.

Analiza filogenetyczna mikrosymbiontów *Ononis arvensis* w oparciu o geny metabolizmu podstawowego

Sylwia Wdowiak-Wróbel[1], Monika Marek-Kozaczuk[1], Michał Kalita[1], Marta Palusińska-Szysz[1], Wanda Małek[1], Mykhaylo Chernetskyy[2]

[1]Uniwersytet Marii-Curie Skłodowskiej, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin
[2]Ogród Botaniczny UMCS, ul. Sławinkowska 3, 20-810 Lublin

Badaniami objęto 8 szczepów wyizolowanych z brodawek korzeniowych rośliny motylkowatej, *Ononis arvensis* L. (wilżyny bezbronnej), pochodzącej z południowo -wschodniej części Polski. W celu określenia relacji filogenetycznych mikrosymbiontów *Ononis arvensis* z innymi bakteriami brodawkowymi oraz ustalenia ich pozycji taksonomicznej, wykonano analizę porównawczą sekwencji pięciu genów metabolizmu podstawowego (*atpD, glnA, recA, gyrB, rpoB*). Do analizy, wybrane zostały szczepy (OA4, OA118, OA121, OA129, OA303, OA191, OA 147 i OA178) reprezentujące dwie grupy zidentyfikowane w oparciu o analizę BOX-PCR. Analiza filogenetyczna sekwencji genów metabolizmu podstawowego mikrosymbiontów wilżyny bezbronnej, wykazała zróżnicowanie filogenetycznej badanych mikroorganizmów. Na filogramie połączonych sekwencji genów: *atpD, dnaK, glnA, recA, rpoB* (3,030 pz) cztery symbionty *O. arvensis* (OA4, OA121, OA129 i OA303) zgrupowały się z bakteriami rodzaju *Mesorhizobium* i utworzyły z nimi monofiletyczną grupę o podobieństwie sekwencji 92-97%. Izolaty z brodawek wilżyny bezbronnej zgrupowały się w dwóch odrębnych podgrupach, tj. część utworzyła wspólne grono z bakteriami gatunku *M. huakuii* wskazując na ich przynależność do tego taksonu, a jeden z bakteriami *M. amorphae* i *M. septentrionale*. Trzy z przebadanych szczepów, tj. OA118, OA191 i OA147 utworzyły wspólne grono z bakteriami rodzaju *Rhizobium*, natomiast szczep OA147 utworzył wspólne grono z gatunkiem *Agrobacterium tumefaciens*. W oparciu o MLSA można stwierdzić, że badane szczepy mogą reprezentować gatunki rodzaju *Mesorhizobium*, *Rhizobium* oraz *Agrobacterium*. Określenie przynależność gatunkowej mikrosymbintów *O. arvensis* wymaga jednak dalszych badań (oznaczenia stopnia hybrydyzacji DNA-DNA).

Phylogenetic analysis of *Ononis arvensis* microsymbionts based on the sequences of housekeeping genes

The study involved 8 strains isolated from the root nodules of the legume plant *Ononis arvensis* L. (Field Restharrow) originating from the southeastern part of Poland. In order to determine the phylogenetic relationships of *Ononis arvensis* microsymbionts with other nodule bacteria and to establish their taxonomic position, a comparative analysis of the five housekeeping genes (*atpD, glnA, recA, gyrB, rpoB*) was performed. *Strains representing different* BOX-PCR *groups (*OA4, OA118, OA121, OA129, OA303, OA191, OA 147 and OA178*)* were used in MLSA analysis. Phylogenetic analysis of the housekeeping genes of Field Restharrow microsymbiones showed a large phylogenetic diversity of the studied strains. In the phylogram of the linked gene sequences: *atpD, dnaK, glnA, recA, rpoB* (3,030 bp), four microsymbiotes of *O. arvensis* (OA4, OA121, OA129 and OA303) clustered with bacteria of the genus *Mesorhizobium* and formed a monophyletic groups with 92-97% sequence similarity. Isolates from Field Restharrow were grouped in two separate subgroups, i.e. three strains formed a common group with *M. huakuii* species, indicating that they belonged to this taxon, and one strain formed a common group together with the *M. amorphae* and *M. septentrionale* strains. Three of the tested strains, OA118, OA191 and OA147 were grouped with bacteria of the genus *Rhizobium*, while the strain OA147 formed a common group with *Agrobacterium tumefaciens*. Based on MLSA analysis, it can be concluded that the studied strains may represent species of the genera *Mesorhizobium, Rhizobium* and *Agrobacterium*. However, the species position of *O. arvensis* microsymbionts should be determined based on the DNA-DNA hybridization test.

Ocena środowiskowych efektów stosowania różnego rodzaju środków wapnujących w uprawie żyta ozimego

Ryszard Winiarski

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, PolskaRyszard Winiarski: rwin@iung.pulawy.pl

W doświadczeniu testowano działanie wybranych środków wapnujących (kreda, wapno węglanowe, wapno tlenkowe (60% CaO), wapno węglanowe-magnezowe, wapno tlenkowe-magnezowe, wapno posodowe, gips, wapno defekacyjne) stosowanych w dawce 0,5 i 1,0 dawki optymalnej, odpowiednio: 1,75 i 3,5 t CaO/ ha, na tle obiektu kontrolnego (bez wapnowania ze standardowym nawożeniem NPK. Liczebność bakterii i promieniowców na obiekcie kontrolnym była blisko 4 krotnie wyższa niż na obiektach nawozowych. Najwyższą liczebność bakterii i promieniowców odnotowano dla wapna posodowego (28,24 i 17,14 jtk/g s.m. gleby). Zwiększenie liczby bakterii i promieniowców uzyskane pod wpływem wzrastającej dawki wapnia obserwowano w większości przypadków, najwyższe przy wapnie węglanowym. Wzrost dawki wapnia spowodował 13% wzrost liczebności bakterii i promieniowców. Liczebność grzybów na obiekcie kontrolnym była 36% wyższa niż na obiektach nawozowych. Najwyższą liczebność grzybów odnotowano dla wapna tlenkowego-magnezowego (25,52 i 35,61 jtk/g s.m. gleby). Zwiększenie liczby grzybów uzyskane pod wpływem wzrastającej dawki wapnia obserwowano w połowie przypadków, najwyższe przy wapnie tlenkowym-magnezowym. Wzrost dawki wapnia spowodował 9% wzrost liczebności grzybów.

Assessment of the environmental effects of the use of different types of liming agents in winter rye cultivation

The experiment tested the effects of selected liming agents (chalk, carbonate lime, oxide lime of 60% CaO, carbonate magnesium lime, oxide magnesium lime, post-glacial lime, gypsum, defecation lime) applied at the rates of 0.5 and 1.0 of the optimal dose, respectively: 1.75 and 3.5 t CaO/ha. The results were compared against the control treatment (without liming with standard NPK fertilization). The number of bacteria and radioactives in the control treatment was almost 4 times higher than in the fertilizer facilities. The highest number of bacteria and radioactives was recorded for post-fertilization lime (28.24 and 17.14 cfu/g d.m. of the soil). An increase in the number of bacteria and radioactives obtained under the influence of an increasing dose of calcium was observed in most cases, being the highest in the case of carbonate lime. The increase in calcium dose caused a 13% increase in the number of bacteria and radioactives. The number of fungi in the control treatment was 36% higher than in the fertilizer treatments. The highest number of fungi was recorded for oxide-magnesium lime (25.52 and 35.61 cfu/g d.m. of the soil). An increase in the number of fungi obtained under the influence of an increasing dose of calcium was observed in half of the cases, being the highest for oxide-magnesium lime. An increase in the calcium dose caused a 9% increase in the number of fungi.

Ocena środowiskowych efektów stosowania różnego rodzaju środków wapnujących w uprawie pszenżyta ozimego

Ryszard Winiarski

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, PolskaRyszard Winiarski: rwin@iung.pulawy.pl

W doświadczeniu testowano działanie wybranych środków wapnujących (kreda, wapno węglanowe, wapno tlenkowe (60% CaO), wapno węglanowe-magnezowe, wapno tlenkowe-magnezowe, wapno posodowe, gips, wapno defekacyjne) stosowanych w dawce 0,5 i 1,0 dawki optymalnej, odpowiednio: 1,75 i 3,5 t CaO/ ha, na tle obiektu kontrolnego (bez wapnowania ze standardowym nawożeniem NPK. Liczebność bakterii i promieniowców na obiekcie kontrolnym była 62% niższa niż na obiektach nawozowych. Najwyższą liczebność bakterii i promieniowców odnotowano dla wapna defekacyjnego przy wyższej dawce wapnia (29,71 jtk/g s.m. gleby). Zwiększenie liczby bakterii i promieniowców uzyskane pod wpływem wzrastającej dawki wapnia obserwowano w połowie przypadków, najwyższe przy wapnie defekacyjnym. Wzrost dawki wapnia spowodował 53% wzrost liczebności bakterii i promieniowców. Liczebność grzybów na obiekcie kontrolnym była przeszło 33% niższa niż na obiektach nawozowych. Najwyższą liczebność grzybów odnotowano dla wapna tlenkowego przy wyższej dawce wapnia (46,14 jtk/g s.m. gleby). Zwiększenie liczby grzybów uzyskane pod wpływem wzrastającej dawki wapnia obserwowano w większości przypadków, najwyższe przy wapnie węglanowo-magnezowym. Wzrost dawki wapnia spowodował przeszło 63% wzrost liczebności grzybów.

Assessment of the environmental effects of the use of different types of liming agents in winter triticale cultivation

The experiment tested the effects of selected liming agents (chalk, carbonate lime, oxide lime of 60% CaO, carbonate magnesium lime, oxide magnesium lime, post-glacial lime, gypsum, defecation lime) applied at the rates of 0.5 and 1.0 of the optimal dose, respectively: 1.75 and 3.5 t CaO/ha. The results were compared against the control treatments (without liming with standard NPK fertilization). The number of bacteria and radioactives at the control treatment was by 62% lower than at the fertilizer treatments. The highest number of bacteria and radiators was recorded for defecation lime at a higher calcium rate (29.71 cfu/g d.m. of the soil). An increase in the number of bacteria and radioactives obtained under the influence of an increasing dose of calcium was observed in half of the cases, being the highest in defecation lime. An increase in calcium rate caused a 53% increase in the number of bacteria and radioactives. The number of fungi on the control treatment was by over 33% lower than in the fertilizer treatments. The highest number of fungi was recorded for oxide lime at a higher calcium rate (46.14 cfu/g d.m. of the soil). An increase in the number of fungi obtained under the influence of an increasing dose of calcium was observed in most cases, being the highest in the case of carbonate and magnesium lime. The increase in calcium rate caused an over 63% increase in the number of fungi.

Endofity bakteryjne roślin uprawnych i chwastów - izolacja i identyfikacja

Małgorzata Woźniak*, Anna Gałązka

Zakład Mikrobiologii Rolniczej

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy,
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, tel. (0-81) 4786950,
*autor korespondencyjny: e-mail: mlyszcz@iung.pulawy.pl

Termin endofity odnosi się do grupy mikroorganizmów, które zasiedlają tkanki roślin nie powodując przy tym objawów chorobowych. Struktura społeczności bakterii endofitycznych wykazuje dużą różnorodność w obrębie danego gatunku rośliny. Zróżnicowanie i występowanie tych bakterii uwarunkowane jest przez czynniki abiotyczne i biotyczne m.in. warunki glebowe, biogeografię, gatunek rośliny, wzajemne interakcje pomiędzy drobnoustrojami, a także interakcje drobnoustrojów i roślin. Celem niniejszych badań jest genomowa charakterystyka bakterii endofitycznych w oparciu o analizę porównawczą sekwencji genu 16S rybosomalnego RNA. Do izolacji endofitów wybrano ważne ekonomicznie rośliny *Zea mays* L., *Vicia faba* L., *Secale cereale* L*., Triticum aestivum* L. *Arctium lappa* L*. i Equisetum arvense* L. Rośliny pobrano w okresie letnim w 2014 roku z pól doświadczalnych znajdujących się w Grabowie nad Wisłą. Na podstawie analizy porównawczej sekwencji 16S rDNA, wszystkie szczepy bakterii przypisano do 10 rodzajów: *Rhizobium* (19 izolatów), *Delftia* (11), *Agrobacterium* (5), *Stenotrophomonas* (3), *Brevundimonas* (2), *Novosphingobium* (1), *Variovorax* (1) *Collimonas* (1), *Achromobacter* (1) i *Comamonas* (1).

Badania sfinansowano z Tematu Badawczego 1.21, realizowanego w ramach działalności Statutowej IUNG-PIB Puławy. Tytuł: „Identyfikacja molekularna i biochemiczna bakterii endofitycznych i ich zastosowanie w promowaniu wzrostu roślin”.

Bacterial endophytes of crop plants and weeds - isolation and identification

The term "endophytes" refers to a group of microorganisms that settle plant tissues without causing disease symptoms. Endophyte community structure exhibits a high diversity of species within the plant. The diversity and occurrence of these bacteria is determined by abiotic and biotic factors, including soil conditions, biogeography, plant species, interactions between microorganisms, as well as microbial and plant interactions. The aim of this research is to perform the genomic characterization of endophytic bacteria based on the comparative analysis of the 16S ribosomal RNA gene sequence. The economically important plants *Zea mays* L., *Vicia faba* L., *Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L. *Arctium lappa* L. and *Equisetum arvense* L were selected for the isolation of endophytes. The plants were collected in the summer in 2014 from experimental fields located in Grabów on the Wisła. Based on the comparative analysis of the 16S rDNA sequence, all bacterial strains were assigned to 10 genera: *Rhizobium* (19 isolates), *Delftia* (11), *Agrobacterium* (5), *Stenotrophomonas* (3), *Brevundimonas* (2), *Novosphingobium* (1), *Variovorax* (1) *Collimonas* (1), *Achromobacter* (1) and *Comamonas* (1).

This research was supported by the project nr 1.21, the statutory activity of IUNG-PIB in Pulawy. Title: "Molecular and biochemical identification of endophytic bacteria and their use in plant growth promotion"

Struktura i różnorodność mikrobiomu korzeni *Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei*

Małgorzata Woźniak *[1], Anna Gałązka[1], Jarosław Grządziel[1], Magdalena Frąc[2]

[1]Zakład Mikrobiologii RolniczejInstytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy,
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, tel. (0-81) 4786950,
* autor korespondencyjny: e-mail: mlyszcz@iung.pulawy.pl
[2]Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk,
ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, tel. (0-81) 7445061

System korzeniowy jest kolonizowany przez wiele grup mikroorganizmów, które stanowią mikrobiom korzenia. Interakcje mikroorganizmów z korzeniami roślin mogą mieć znaczący wpływ na wzrost i rozwój roślin. Współzależności te mają różny charakter od pasożytniczego do symbiozy mutualistycznej. W literaturze odnotowano wiele przykładów badań wskazujących, że genotyp gospodarza roślinnego wpływa na ogólny skład społeczności mikroorganizmów. Wydzieliny korzeniowe i rozkładające się resztki roślinne, stanowiące główne źródło węgla i energii, są odpowiedzialne za zmiany różnorodności mikroorganizmów, ich liczebność oraz aktywność w mikrośrodowisku ryzosfery. Celem badań było scharakteryzowanie endofitów korzenia hybrydy *Paulownia elongata* i *Paulownia fortunei*. Cele szczegółowe dotyczą identyfikacji bakterii występujących w korzeniu ze stosunkowo niewielką liczbą korzeni bocznych oraz w pełni ukształtowanym korzeniu. Społeczności mikroorganizmów z endosfery korzenia zostały ocenione przez amplifikację fragmentów genu 16S rRNA i ich zsekwencjonowane przy użyciu platformy Illumina MiSeq. Analiza zbiorowisk bakteryjnych w obu próbkach korzeni wykazała, że dominującym typem bakterii był typ Proteobacteria.

Badania finansowano ze środków projektu NCN-Preludium, nr projektu UMO-2016/23/N/NZ9/02157.

Structure and diversity of the root microbiome of *Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei*

The root system is colonized by many groups of microorganisms, as the root microbiome. Interactions of microorganisms with plant roots can have a profound effect on the growth and development of plants. These interactions have different character from parasitic to mutualistic symbiosis. There are many examples of studies in the literature indicating that the plant host genotype affects the overall composition of the microorganisms community. Roots and decomposing plant residues, the main source of carbon and energy, are responsible for changes of microorganisms diversity, their number and activity in the micro-environment of the rhizosphere. The aim of the research was to characterize the root endophyte *Paulownia elongata* and *Paulownia fortunei* hybrid. Specific objectives are related to the identification of bacteria present in the root with a relatively small number of lateral roots and in the fully formed root. Microbial communities from the root endosphere were evaluated by amplifying fragments of the 16S rRNA gene and sequencing with the use of the Illumina MiSeq platform. An analysis of bacterial communities in both samples showed that the most dominant phylum of bacteria was Proteobacteria.

This research funded by the NCN-Preludium project no UMO-2016/23/N/NZ9/02157.

POSTERY
METAGENOMIKA A JAKOŚĆ ŚRODOWISKA

Struktura bakterii w glebie zanieczyszczonej fungicydami

Małgorzata Baćmaga, Jadwiga Wyszkowska, Jan Kucharski

Katedra Mikrobiologii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa,
Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie

Zanieczyszczenie gleby fungicydami niesie za sobą wiele niepożądanych skutków, które objawiają się m. in. zmianami w strukturze i aktywności drobnoustrojów. Aby temu zapobiec ważne jest ciągłe monitorowanie losów tych chemikaliów w środowisku. Głównym celem badań było określenie struktury mikroorganizmów w glebie zanieczyszczonej fungicydami (Amistar 250 SC, Falcon 460 EC, Gwarant 500 SC i Helicur 250 EW). Analizy bioróżnorodności strukturalnej wykonano w oparciu o sekwencjonowanie następnej generacji (NGS). Ponadto w próbkach glebowych oznaczono aktywność dehydrogenaz, katalazy, ureazy, fosfatazy kwaśnej, fosfatazy alkalicznej, arylosulfatazy i β-glukozydazy. Analiza sekwencji wykazała, że w badanych próbkach glebowych występowały zmiany taksonów już na poziomie typu, przy czym największe różnice zaobserwowano w randze rodziny, rodzaju i gatunku. Na poziomie typu we wszystkich próbkach dominowały Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria i Verrucomicrobia. *Arthrobacter psychrochitiniphilus* był charakterystyczny dla gleby zanieczyszczonej fungicydem Amistar 250 SC, Gwarant 500 SC i Helicur 250 EW, a *Bacillus simplex* dla gleby zanieczyszczonej Falcon 460 EC. W glebie kontrolnej dominował *Bacillus aryabhattai*. Testowane fungicydy okazały się silnymi inhibitorami aktywności enzymów glebowych, z wyjątkiem fosfatazy alkalicznej i β-glukozydazy.

Structure of bacteria in soil contaminated with fungicides

Contamination of soil with fungicides brings about a lot of unwanted effects, which manifest themselves in changes in the structure and activity of microorganisms. In order to prevent it, it is important to monitor the fate of these chemicals in the environment. The main aim of the study was to determine the structure of microorganisms in soil contaminated with fungicides (Amistar 250 SC, Falcon 460 EC, Gwarant 500 SC and Helicur 250 EW). Analyses of structural biodiversity were based on next generation sequencing (NGS). Moreover, the activity of dehydrogenases, catalase, urease, acid phosphatase, alkaline phosphatase, arylsulfatase and β-glucosidase in the soil was examined. The sequence analysis has shown that changes of taxons in the soil samples under study took place at the phylum level, with the greatest differences observed at the levels of families, genera and species. At the phylum level, Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria and Verrucomicrobia dominated in all the samples. *Arthrobacter psychrochitiniphilus* was characteristic of soil contaminated with Amistar 250 SC, Gwarant 500 SC and Helicur 250 EW, and *Bacillus simplex* – of soil contaminated with Falcon 460 EC. *Bacillus aryabhattai* dominated in control samples. The tested fungicides proved to be strong inhibitors of soil enzymes, except for alkaline phosphatase and β-glucosidase.

Bakterie w powietrzu wewnętrznym zabytkowych obiektów Krakowa

Maria J. Chmiel, Krzysztof Frączek, Iwona Hryniewicz

Katedra Mikrobiologii, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza obiektów zabytkowych może być czynnikiem decydującym o zachowaniu zbiorów, tym bardziej, że istnieje zależność pomiędzy zapyleniem, a koncentracją drobnoustrojów w powietrzu. Celem pracy była ocena stopnia zanieczyszczenia bakteriologicznego powietrza i potencjalnego zagrożenia wynikającego z obecności drobnoustrojów w powietrzu dla badanych obiektów zabytkowych Krakowa i ich pracowników. Do badań użyto 6-stopniowego impaktora Andersena. Dokonano także pomiarów temperatury, wilgotności względnej powietrza oraz zapylenia. Badania wykonano w 10 obiektach (3 kościoły, 3 muzea, 2 biblioteki, 2 krypty) w 4 seriach pomiarowych (wiosna, lato, jesień, zima) dwukrotnie w ciągu dnia. Punkt kontrolny (tło zewnętrzne) zlokalizowano na Rynku Głównym. Udział frakcji respirabilnej w całkowitym stężeniu zanieczyszczeń mikrobiologicznych we wszystkich badanych obiektach stanowił ponad 50%. Najbardziej zanieczyszczonymi w całym okresie badawczym były Kościół Św. Kazimierza (średnia 848 jtk·m^{-3}) i Stara Synagoga (695 jtk·m^{-3}), a najmniej Krypta Zasłużonych (129 jtk·m^{-3}). Zastosowane w Podziemiach Rynku środki dezynfekcyjne spowodowały krótkotrwałą istotną redukcję liczby zanieczyszczeń mikrobiologicznych w powietrzu wewnętrznym. Stężenie całkowite aerozolu bakteryjnego zależało od lokalizacji obiektów i ich przeznaczenia. Liczba bakterii w powietrzu badanych obiektów na terenie Krakowa może sygnalizować istnienie wewnętrznych źródeł mikrobiologicznych zanieczyszczeń, groźnych z punktu widzenia stanu zachowania zbiorów, ale nie stanowiących zagrożenia z dla stanu zdrowia pracowników i osób odwiedzających zabytki.

Bacteria in the indoor air of the historic buildings of Krakow

Microbiological contamination of the indoor air of monumental objects can be a factor determining the preservation of collections, the more that there is a relationship between dustiness and the concentration of microorganisms in the air. The aim of the study was to assess the degree of bacteriological contamination of the air and the potential hazard arising from the presence of microorganisms in the air for the examined historical objects of Krakow and their employees. The 6-step Andersen impactor was used for the study. During the air sampling temperature, relative humidity and dustiness were measured. The study was carried out in 10 places (3 churches, 3 museums, 2 libraries, 2 crypts) in four measurement series (spring, summer, autumn, winter) twice a day. The control point (external background) was located on the Main Market Square. The share of the respirable fraction in the total concentration of microbiological contaminants in all examined facilities accounted for over 50%. The most contaminated throughout the research period were the Church of Saint Casimir (average 848 cfu^{-3}) and the Old Synagogue (695 cfu^{-3}), and the least Crypt for the Honorable (129 cfm^{-3}). Disinfectants used in the Market Underground caused a short-term significant reduction in the number of microbiological contaminants in the indoor air. The total concentration of bacterial aerosol depended on the location of the objects and their purpose. The number of bacteria in the air of the studied objects may signal the existence of internal sources of microbiological contaminants, dangerous from the point of view of the conservation status of the collections but do not constitute threats to the health of employees and visitors.

Ocena zmian aktywności i różnorodności drobnoustrojów w glebie w różnych systemach uprawy roli

Anna M. Gajda[1], Ewa A. Czyż[2], Karolina Furtak[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy; ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; tel. (0-81) 4786961; e-mail: ag@iung.pulawy.pl
[2]Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii, ul. Zelwerowicza 8b, 35-601 Rzeszów, e-mail: ewac@ur.edu.pl

Przeprowadzone badania koncentrowały się głównie na określeniu zmian w różnorodności drobnoustrojów i aktywności enzymatycznej w glebie związanych z oddziaływaniem bezorkowej uprawy roli pod pszenicą ozimą w stosunku do systemu opartego na orce pługiem.
Badania przeprowadzono w latach 2016-2017 w oparciu o doświadczenia polowe zlokalizowane w RZD IUNG-PIB w Grabowie (woj. mazowieckie), na których od roku 2002 stosowane są różne systemy uprawy roli. Analizy gleby zostały wykonane przy zastosowaniu metod standardowych oraz dostępnych technik molekularnych. Analizy statystyczne wykonano w programie ANOVA i Statistica ver. 10.0. Istotność różnic przyjęto na poziomie P≤0,05. Uzyskane wyniki wykazały, że uprawa bezorkowa przyczyniała się do korzystnych zmian w jakości środowiska glebowego, co znalazło potwierdzenie w zróżnicowanych ilościach wyizolowanego z gleby DNA, wyższej aktywności metabolicznej drobnoustrojów określonej przy pomocy techniki BIOLOG® EcoplatesTM oraz wyższej aktywności enzymatycznej gleby, w porównaniu do systemu płużnego.

Badania sfinansowano częściowo z Programu Badawczego Wieloletniego IUNG-PIB Zadanie 1.3 i 1.4 oraz Statutowego Programu Badawczego 2.26 i 2.38.

Evaluation of changes in the activity and diversity of microorganisms in soil under different tillage systems

The studies focused mainly on assessment of changes in the diversity of microorganisms and enzymatic activity in soil under winter wheat associated with the impact of no-tillage system in comparison with the tillage system based on ploughing. Research was conducted in the years 2016-2017 on experimental fields at the ES of IUNG-PIB in Grabów (Mazovian voivodeship) under different tillage practices started in 2002. Soil analyses were performed using both standard and molecular-base methods. Statistical analyses were made using the ANOVA method and Statistica ver. 10.0 software. The differences were considered as significant at P≤0.05. The no-till system enhanced beneficial changes in soil environment what was reflected in varied quantities of soil DNA, higher metabolic activity measured with BIOLOG® EcoplatesTM, and higher activity of soil enzymes as compared to the tillage with mouldboard plough.

The research was supported partly by IUNG-PIB Research Programmes 1.3 and 1.4 and Research Statute Program 2.26 and 2.38.

Ocena zmian w mikrobiologicznej jakości środowiska glebowego jako skutek oddziaływania różnych systemów produkcji roślinnej

Anna M. Gajda[1], Ewa A. Czyż[2], Karolina Furtak[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy; ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; tel. (0-81) 4786961; e-mail: ag@iung.pulawy.pl
[2]Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii, ul. Zelwerowicza 8b, 35-601 Rzeszów, e-mail: ewac@ur.edu.pl

Celem przeprowadzonych badań była ocena zmian w populacji drobnoustrojów i aktywności enzymatycznej w glebie związanych z oddziaływaniem organicznego i konwencjonalnego systemu produkcji. Badania przeprowadzono w latach 2016-2017 na polach doświadczalnych pod pszenicą ozimą uprawianą w systemach: ekologicznym (ORG) i konwencjonalnym (CON) w ES IUNG-PIB w Osinach (województwo lubelskie). Oznaczono aktywność enzymatyczną oraz różnorodność metaboliczną drobnoustrojów w glebie. Analizy statystyczne uzyskanych wyników wykonano stosując metodę ANOVA oraz program Statistica ver. 10.0. Istotność różnic przyjęto na poziomie P≤0,05. Uzyskane wyniki wykazały, że system ORG przyczyniał się do korzystnych zmian w jakości środowiska glebowego, co znalazło potwierdzenie w wyższej aktywności enzymatycznej gleby oraz większym zróżnicowaniu populacji mikroorganizmów i wyższej aktywności metabolicznej drobnoustrojów określonej przy pomocy techniki BIOLOG® Ecoplates™ w porównaniu do systemu produkcji CON.

Badania sfinansowano częściowo z Programu Badawczego Wieloletniego IUNG-PIB Zadanie 1.3 i 1.4 oraz Statutowego Programu Badawczego 2.26 i 2.38.

Assessment of changes in the microbial quality of soil environment as an effect of the impact of different crop production systems

The aim of the study was to evaluate changes in microbial communities and enzymatic activity in the soil related to the impact of the organic and conventional production systems. The research was carried out in 2016-2017 on experimental fields under winter wheat grown in the ecological (ORG) and conventional (CON) production systems in ES IUNG-PIB in Osiny (Lublin province). The enzymatic activity and metabolic diversity of microorganisms in the soil were determined. Statistical analyses of the obtained results were made using the ANOVA method and Statistica ver. 10.0 software. Significance of differences was assumed at P≤0.05. The obtained results showed that the ORG system contributed to favorable changes in the quality of the soil environment, which was confirmed by higher enzymatic activity and greater diversity of microbial populations and higher metabolic activity of microorganisms determined by the BIOLOG® Ecoplates™ technique compared to the CON crop production system.

The research was supported partly by IUNG-PIB Research Programmes 1.3 and 1.4 and Research Statute Program 2.26 and 2.38.

Długoletni wpływ naturalnej bioremediacji na zróżnicowanie genetyczne i funkcjonalne mikrobiomu bakteryjnego w glebach skażonych ropą naftową

Anna Gałązka, Jarosław Grządziel, Karolina Gawryjołek, Karolina Furtak

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, Puławy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, agalazka@iung.pulawy.pl

Celem pracy była ocena różnorodności funkcjonalnej i strukturalnej mikroorganizmów w glebie długoletnio skażonej ropą naftową. Próbki gleb pobrano latem 2016 roku spod czterech czynnych wyciągów ropy naftowej w Kopalni Ropy Naftowej w Węglówce koło Krosna. Próbki gleb pobrano z dwóch odległościach: bezpośrednio spod wyciągu ropy naftowej (w promieniu 0,5 m od wyciągu) oraz w odległości 3 m od wyciągu ropy naftowej. Określono profil metaboliczny skażonej gleby w oparciu o metodę Biolog EcoPlates oraz zróżnicowanie strukturalne na podstawie techniki sekwencjonowania następnej generacji (NGS). Gleby pobrane bezpośrednio spod szybów naftowych charakteryzowały się odmiennym składem bakterii w porównaniu do gleb pobranych w odległości 3 m od szybu naftowego. W glebach pobranych bezpośrednio spod szybów naftowych stwierdzono statystycznie wyższe aktywności w profilu metabolicznym oraz wyższe wskaźniki różnorodności biologicznej w porównaniu do gleb kontrolnych. W glebie pobranej bezpośrednio spod szybów naftowych w strukturze genetycznej bakterii dominowały rodziny: *Bradyrhizobiaceae, Rhizobiaceae, Rhodobacteraceae, Acetobacteraceae, Hyphomicrobiaceae* i *Sphingomonadaceae*. Badanie wyraźnie wykazało, że długoterminowe zanieczyszczenie gleby może zmienić społeczności bakterii w glebie. Wskaźniki oceny bioróżnorodności funkcjonalnej i strukturalnej skorelowano z zawartością Σ 16WWA i wybranych pierwiastków śladowych obecnych w próbkach glebowych.

Long-term effect of natural bioremediation on genetic and functional diversity of bacterial microbiome in soils contaminated with crude oil

The aim of the study was to evaluate functional and structural diversity of bacterial communities in soils with long term impacts from crude oil. Samples were taken in summer 2016 from four still working oil wells. Soil samples were collected at two distances: within a radius of 0.5 m of the oil wells and within a radius of 3 m from the oil wells The next generation sequencing technique (V3-V4 16S rRNA) was accompanied with the community level physiological profiling (CLPP) method in order to better understand knowledge of both genetic and functional structure of soils collected under several oil wells. The significant differences of bacterial community structure between soils were obtained. The soils taken directly from oil wells were characterized by different composition of bacteria. The highest activity of carbon utilization patterns were observed in soils taken directly from oil wells. Also the highest biodiversity indexes were observed in these soils. Also some family of *Alphaproteobacteria* were dominant in soil taken directly from oil wells: *Bradyrhizobiaceae, Rhizobiaceae, Rhodobacteraceae, Acetobacteraceae, Hyphomicrobiaceae* and *Sphingomonadaceae.* The study clearly proved that the long term contamination of soil may change bacterial communities. Indicators of functional and structural biodiversity assessment were correlated with the content of Σ16PAH and selected trace elements present in soil samples.

Scientific work was funded from the budget for science by the statutory activity of IUNG-PIB (1.20) and the frames of Tasks 1.3 and 1.4. Multi – Annual Programme IUNG – PIB (2016-2020).

Wrażliwość szczepów *Rhizobium leguminosarum* wyizolowanych z brodawek korzeniowych koniczyny na wybrane czynniki stresu abiotycznego

Monika Janczarek[1], Paulina Lipa[1], Marta Kozieł[1], John Beck Jensen[2], Piotr Koper[1], Marina Dubina[1]

[1]Zakład Genetyki i Mikrobiologii (Department of Genetics and Microbiology), Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej (M. Curie-Skłodowska University), Akademicka 19 St., 20-033 Lublin, Poland
[2]Zakład Biologii Arktycznej i Morskiej (Department of Arctic and Marine Biology), Norweski Uniwersytet Arktyczny (The Arctic University of Norway), Tromsø, Norway

Rhizobium leguminosarum należy do bakterii glebowych zdolnych do nawiązania interakcji symbiotycznych z roślinami bobowatymi (motylkowatymi). Bakterie te indukują tworzenie specjalnych organów, zwanych brodawkami, na korzeniach gospodarzy roślinnych, wewnątrz których zachodzi redukcja azotu atmosferycznego do amoniaku, co uniezależnia rośliny od nawożenia azotowego. Z tych powodów symbioza rizobiów z roślinami bobowatymi jest ważnym procesem, zarówno pod względem ekologicznym, jak i ekonomicznym. Jednakże, w warunkach braku rośliny gospodarza, rizobia muszą egzystować w glebie jako wolno żyjące mikroorganizmy. Wówczas narażone są one na działanie różnych czynników środowiskowych, które mają negatywny wpływ na ich przeżywalność, a w konsekwencji na efektywność symbiozy.
W pracy tej zbadano zdolności adaptacyjne kilkunastu szczepów *R. leguminosarum* wyizolowanych z brodawek korzeniowych koniczyn rosnących w okolicach Lublina w stosunku do wybranych czynników abiotycznych: temperatury, zasolenia i niedoboru substancji odżywczych. Wykazano, że wszystkie izolaty koniczynowe posiadały bardzo podobny profil wrażliwości względem badanych czynników stresowych. Szczepy te były odporne na działanie niskich temperatur i efektywnie namnażały się w temp. 16°C, natomiast były wrażliwe na zasolenie podłoża (zahamowanie wzrostu obserwowano w obecności 0,4% NaCl).

P. Koper jest stypendystą programu Start Fundacji na rzecz Nauki Polskiej.

Sensitivity of *Rhizobium leguminosarum* strains isolated from clover root nodules to selected abiotic stress factors

Rhizobium leguminosarum is a species of soil bacteria capable of establishing symbiotic interactions with legumes. These bacteria induce the formation of special organs, called nodules, on host plant roots. Inside the nodules, atmospheric nitrogen is reduced to ammonia, thus making the plants independent of external nitrogen input. Because of these reasons, symbiosis of rhizobia with legumes is an important process from both an ecological and economic point of view. However, in the absence of host plants, rhizobia have to exist in soil as free-living microorganisms. Under such circumstances, they are exposed to the action of various environmental factors which can negatively affect bacterial survival and, ultimately, symbiotic effectiveness. In this study, we characterized the ability of several *R. leguminosarum* strains isolated from root nodules of clover plants grown around Lublin to adapt to selected abiotic factors: temperature, salinity, and limited supply of nutrients. We found that all the clover isolates had similar sensitivity profiles to the stress factors tested. These strains were resistant to low temperatures and grew effectively even at 16 °C. On the other hand, they were sensitive to salinity (inhibition of bacterial growth was observed in the presence of 0.4% NaCl).

Zdolność szczepów *Rhizobium leguminosarum* do produkcji laktonów

Monika Janczarek[1], Marta Kozieł[1], Paulina Lipa[1], John Beck Jensen[2], Piotr Koper[1], Kamila Rachwał[1]

[1]Zakład Genetyki i Mikrobiologii (Department of Genetics and Microbiology), Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej (M. Curie-Skłodowska University), Akademicka 19 St., 20-033 Lublin, Poland
[2]Zakład Biologii Arktycznej i Morskiej (Department of Arctic and Marine Biology), Norweski Uniwersytet Arktyczny (The Arctic University of Norway), Tromsø, Norway

Rhizobium leguminosarum jest Gram-ujemną bakterią, która może egzystować w glebie w stanie wolno żyjącym lub nawiązywać symbiozę z koniczyną. W warunkach braku rośliny gospodarza, komórki bakteryjne wykorzystują różne cząsteczki sygnałowe do komunikowania się między sobą. Do takich sygnałów należą laktony *N*-acylo-homoseryny, które wykorzystywane są w zjawisku Quorum-sensing. Dotychczas wykazano, że szczepy *R. leguminosarum* są zdolne do syntezy kilku rodzajów laktonów *N*-acylo-homoseryny, które uczestniczą w regulacji różnych procesów biologicznych, takich jak: transfer plazmidów, ruchliwość komórek czy synteza polisacharydów. W tej pracy scharakteryzowano populację kilkudziesięciu szczepów *R. leguminosarum* wyizolowanych z brodawek korzeniowych koniczyn pod względem zdolności do syntezy laktonów *N*-acylo-homoseryny. W doświadczeniach wykorzystano *Chromobacterium violaceum* jako szczep wskaźnikowy. Wykazano, że produkcja sygnałów laktonowych jest powszechną cechą wśród szczepów *R. leguminosarum,* gdyż 88% testowanych bakterii syntetyzowało te cząsteczki, chociaż z różną wydajnością.

P. Koper jest stypendystą programu Start Fundacji na rzecz Nauki Polskiej.

The ability of *Rhizobium leguminosarum* strains to produce lactones

Rhizobium leguminosarum is a Gram-negative bacterium which can exist in a free-living stage in soil or establish a symbiosis with clover. In the absence of host plants, bacterial cells use various signals to communicate with each other. One example of such signalling molecules are *N*-acyl homoserine lactones, which are used in Quorum-sensing. So far, it has been found that *R. leguminosarum* strains are able to synthesize a few types of *N*-acyl homoserine lactones, which participate in the regulation of different biological processes, such as plasmid transfer, cell motility, and synthesis of polysaccharides. In this work, we characterized a population of a few dozen *R. leguminosarum* strains isolated from the nodules of clover roots in terms of their ability to produce *N*-acyl homoserine lactones. In these experiments, *Chromobacterium violaceum* was used as a detector strain. It was established that synthesis of lactone signals is a common feature among *R. leguminosarum* strains, since 88% of the tested bacteria produced these molecules; however, they did so with varied effectiveness.

Podatność roślin Brassica na porażenie przez *Plasmodiophora brassicae* na podstawie obserwacji mikro- i makroskopowych korzeni

Beata Kowalska, Urszula Smolińska, Agnieszka Czajka, Monika Markiewicz

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

Przeprowadzono obserwacje mikro- i makroskopowe siedmiu, uważanych za odporne, genotypów korzeni roślin Brassica pod kątem oceny stopnia odporności na dwa patotypy *Plasmodiophora brassicae*. Inokulum patogena o zagęszczeniu zarodników $1x10^8$ spor/ml, uzyskano poprzez homogenizację zainfekowanych badanymi patotypami narośli korzeniowych. Przygotowanym inokulum zakażono podłoże, do którego wysiano nasiona badanych genotypów roślin. Doświadczenie prowadzono w płytkach Phytotoxkit. Obserwacje mikroskopowe korzeni prowadzono od 4 do 20 dnia od wysiewu nasion. W korzeniach określano liczebność plazmodiów zawierających wykształcone, kuliste zoosporangia. Na podstawie obserwacji mikroskopowych stwierdzono, że termin pojawiania się pierwszych wykształconych plazmodiów we włośnikach zależy od genotypu badanej rośliny i mieści się w granicach od 4 do 10 dnia od wysiewu nasion. Zauważono, że średnia liczba plazmodiów w obserwowanym fragmencie korzenia jest zależna od genotypu badanej rośliny, a reakcje korzeni badanych roślin na porażenie badanymi patotypami *P. brassicae* różnią się między sobą. W przypadku patotypu nr 2 obserwowano wcześniejsze pojawianie się dojrzałych plazmodiów zawierających kuliste zarodnie pływkowe niż w przypadku patotypu nr 9. Obserwacje makroskopowe korzeni prowadzono po 10, 20 i 35 dniach od wysiewu nasion do kuwet z zakażonym podłożem. Objawy chorobowe obserwowano we wszystkich badanych genotypach roślin rosnących w podłożu z patotypem nr 9 oraz w trzech genotypach z patotypem nr 2. Z badań wynika, że badane genotypy Brassica nie są odporne, lecz charakteryzują się różnym poziomem tolerancyjności na patotypy nr 2 i nr 9 *P. brassicae*.

Prace finansowane przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi w ramach zadania nr 99 Badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej.

Susceptibility of Brassica plants to *Plasmodiophora brassicae* on the micro and macroscopic observations of roots

Micro- and macroscopic observations of Brassica plants roots were conducted. Seven genotypes, considered to be resistant, for assessment of the degree of resistance to two *Plasmodiophora brassicae* pathotypes number 2 and 9 were studied. Inoculum density $1x10^8$ spor/ml was obtained by homogenization of pathogen infected root galls. The peat medium was inoculated by the pathogens and seeds plant genotypes were sown. The experiment was carried out in Phytotoxkit plates. Microscopic observations of roots were conducted from 4 to 20 days from sowing the seeds. In the roots the number of plasmodia containing mature, spherical zoosporangia were estimated. Based on the microscopic observation, it was found that the emergence of the first manure plasmodia in roots depends on the genotype of the test plants. The plasmodia appeared within 4-10 days from sowing the seeds. It was noted that the average number of plasmodia in the observed fragment of the root is dependent on the plant genotype, and the plant tested roots reactions treatment with various pathotypes *P. brassicae* differ from each other. In the case of pathotype 2 the appearance of ripe plasmodia containing spherical sporangia was observed earlier than in the case of pathotype 9. Macroscopic observations of roots were carried out 10, 20 and 35 days after sowing seeds for cuvettes with an infected peat medium. Macroscopic symptoms were observed in all genotypes studied plants growing in the ground with pathotype 9, and in the three genotypes with pathotype 2. The presented research shows that the tested Brassica genotypes are not immune but they have different levels of tolerance on *P. brassicae* pathotypes number 2 and 9.

This work was supported by the Ministry of Agriculture and Rural Development within 'Basic research for the biological progress in plant production – task 99'

Zmiany mykobiomu gleby w wyniku inwazji rdestowca ostrokończystego (*Reynoutria japonica*)

Magdalena Frąc[1], Karolina Oszust[1], Anna Stefanowicz[2]

[1]Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, e-mail: m.frac@ipan.lublin.pl, koszust@ipan.lublin.pl
[2]W. Szafer Instytut Botaniki, Polska Akademia Nauk, Lubicz 46, 31-512 Kraków, e-mail: a.stefanowicz@botany.pl

Rdestowiec ostrokończysty (*Reynoutria japonica*) jest jednym z najbardziej ekspansywnych obcych gatunków roślin, gdyż poprzez produkcję olbrzymiej biomasy, gwałtownie wypiera rodzime gatunki roślin. Doniesienia literaturowe sugerują, że R. japonica może modyfikować właściwości gleby, jednak brak jest wiedzy o wpływie tego gatunku na mikroorganizmy glebowe. Celem przeprowadzonych badań było określenie składu taksonomicznego zespołów grzybów glebowych pod R. japonica oraz roślinnością rodzimą. Badania mykobioty przeprowadzono w próbkach glebowych pobranych z 5 stanowisk jesienią 2017 roku. Glebę do analiz pobierano z poziomu mineralnego (0-20 cm) spod rośliny inwazyjnej (IM) oraz rodzimej (CM). Analiza metagenomiczna zbiorowisk grzybów została przeprowadzona na podstawie sekwencjonowania następnej generacji (NGS) regionu ITS1, z wykorzystaniem platformy MiSeq Illumina. Łącznie w glebie pochodzącej z badanych stanowisk stwierdzono 552 242 grzybowych operacyjnych jednostek taksonomicznych (OTUs). Uzyskane wyniki wskazują na zmiany zespołów grzybów glebowych w wyniku inwazji *R. japonica*. W oparciu o wyniki NGS stwierdzono, że wśród grzybów w glebie pod rdestowcem dominowały gatunki *Aspergillus tardus, Phoma schachtii, Lacrymaria lacrymabunda, Syncephalis* sp., *Melanophyllum haematospermum, Phialocephala humicola*.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki (Polska), projekt: DEC-2016/23/B/NZ8/00564

Changes in the soil mycobiome as a result of the invasion of the japanese knotweed (*Reynoutria japonica*)

Reynoutria japonica (*Reynoutria japonica*) is one of the most common and aggressive invasive plants, which invades natural sites, forming dense near-monoculture stands, and producing huge amounts of aboveground biomass. Although a few studies concerning the effects of R. japonica invasion on the soil properties have been performed, there is lack of knowledge on its influence on soil microorganisms. The aim of the study was to evaluate the taxonomic composition of fungal community under R. japonica and native plants. The mycobiota study were performed in soil samples taken from 5 sites in autumn 2017. The soil was collected from the mineral level (0-20 cm) under the invasive (IM) and native (CM) plants. Metagenomic analysis of fungal communities was carried out on the basis of the next generation sequencing (NGS) of the ITS1 region, using the MiSeq Illumin platform. In total, 552 242 fungal operational taxonomic units (OTUs) were found in the soil from the sites. The results indicate changes in the soil fungal community as a result of *R. japonica* invasion. Based on the NGS results, it was found that among the fungi in the soil under the knotweed the following fungal species were dominant: *Aspergillus tardus, Phoma schachtii, Lacrymaria lacrymabunda, Syncephalis sp., Melanophyllum haematospermum, Phialocephala humicola*.

The research was funded by the National Science Centre (Poland), project: DEC-2016/23/B/NZ8/00564

Geny warunkujące oporność na tetracykliny w metagenomie wody i osadu rzeki Warty

Ryszard Koczura, Małgorzata Klimek, Amanda Semkowska, Joanna Mokracka

Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Wody powierzchniowe, zwłaszcza rzek, pełnią rolę głównych dróg przepływu genetycznych determinant oporności na antybiotyki. „Tradycyjne" podejście, opierające się na analizie DNA wyizolowanego z bakterii wyhodowanych z próbek wody, jest ograniczone do określonych grup drobnoustrojów i nie uwzględnia bakterii niehodowalnych, których liczba może stanowić nawet 99% wszystkich drobnoustrojów obecnych w środowisku. Celem badań było określenie występowania genów oporności na tetracykliny w metagenomie wody i osadu rzeki Warty. Próbki wody i osadu rzeki Warty pobierano w Rogalinku, Poznaniu i Czerwonaku. Liczbę kopii genów *tet* oraz w metagenomowym DNA oznaczano metodą PCR w czasie rzeczywistym z zastosowaniem barwnika SYBR Green. W wodzie rz. Warty stwierdzono obecność trzech genów warunkujących oporność na tetracykliny: *tet*(A), *tet* (B) i *tet*(C), z których najczęściej występował *tet*(A) – 0,27%, a najrzadziej *tet*(B) – 0,02%. Większą różnorodność zaobserwowano w przypadku metagenomu osadu rzecznego, w którym wykryto geny *tet*(A), *tet* (B), *tet*(C), *tet*(D), *tet*(E), *tet*(G), *tet*(J), *tet*(K), *tet*(L), *tet*(M), *tet*(O), *tet*(Q), *tet*(S), *tet*(X), *tet*(Y), *tet*30 i *tet*(AP), przy czym z większą częstością występowały geny odpowiedzialne za mechanizm oporności na tetracykliny związany z ochroną rybosomu.

Praca sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji nr DEC-2011/03/B/NZ9/00070.

Tetracycline resistance genes in the metagenome of Warta River water and sediment

Surface waters, especially rivers, are major routes of dissemination of antimicrobial resistance genes in the environment. Culture-based approach, relying on analysis of strains cultured from water samples is limited to certain groups of microbes and does not take into account viable but non-culturable bacteria that can make up to 99% of all microorganisms present in a given habitat. The aim of this study was to evaluate the abundance of tetracycline genes in the metagenome of the water and sediment of Warta River. Water and sediment of Warta River were sampled at three sites: Rogalinek, Poznań, and Czerwonak. The copy numbers of *tet* genes was determined by real-time PCR with SYBR Green. Three tetracycline resistance genes were detected in the Warta River water: *tet*(A), *tet* (B), and *tet*(C). The most abundant was *tet*(A), whereas the least – *tet*(B). The sediment contained greater diversity of the genes: *tet*(A), *tet* (B), *tet*(C), *tet*(D), *tet*(E), *tet*(G), *tet*(J), *tet*(K), *tet*(L), *tet*(M), *tet*(O), *tet*(Q), *tet*(S), *tet*(X), *tet*(Y), *tet*30, and *tet*(AP). The most abundant genes were those encoding ribosomal protection proteins.

This work was supported by grant no. DEC-2011/03/B/NZ/00070 from National Science Centre, Poland.

Bioróżnorodność endofitów zasiedlających różne gatunki pszenicy

Agnieszka Kuźniar[1], Agnieszka Wolińska[1], Kacper Karczmarzyk[1], Konrad Kłosok[1], Jarosław Grządziel[2], Anna Gałązka[2], Zofia Stępniewska [1]

[1]Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Instytut Biotechnologii, ul. Konstantynów 1I, 20-708 Lublin, e-mail: agnieszka.kuzniar@kul.pl
[2]Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

Endofity są organizmami żyjącymi wewnątrz roślin, mając ogromny wpływ na jej wzrost, rozwój i witalność. Celem pracy była analiza metagenomiczna endofitów, zasiedlających różne części rośliny: korzeń, liście i koleoptyle dwóch gatunków pszenic: *Tricticum avestivum* L. (odmiana Hondia) oraz *T. spelta* L. (odmiana Rokosz). Izolację DNA prowadzono z użyciem DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit (QIAGEN). Sekwencjonowanie Następnej Generacji zostało wykonane z użyciem technologii MiSeq 2000 (Genomed, Warszawa, Illumina Inc., San Diego, CA, USA). Stwierdzono dużą różnorodność mikrobiomu endofitycznego pod względem gatunku pszenicy a także organu gospodarza. Znaczące różnice w ilości operacyjnych jednostek taksonomicznych (OTU) odnotowano w obrębie następujących rodzajów bakterii: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Janthinobacterium* oraz *Pedobacter*. Wykazano ponadto, iż badane gatunki pszenicy posiadają trzy wspólne rodzaje mikroorganizmów endofitycznych: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Janthinobacterium*. Analiza metagenomiczna potwierdziła, że specyficzny mikrobom endofityczny tworzony jest przez: *Paenibacillus* - *T. avestivum* (odmiana Hondia) oraz *Pedobacter* i *Duganella* - *T. spelta* (odmiana Rokosz). Ustalenie struktury i różnorodności społeczności endofitów pszenicy może przyczynić się do wykorzystania ich potencjału biotechnologicznego, szczególnie w aspekcie ich stosowania jako probiotyków roślinnych.

Biodiversity of endophytes inhabiting the various wheat species

Endophytes are organisms living inside plants, having a huge impact on its growth, development and vitality. The aim of the study was metagenomic analysis of endophytes inhabiting different parts of the plant: root, leaves and coleoptiles among two varieties of wheat: *Tricticum avestivum* L. (cv. Hondia) and *T. spelta* L. (cv. Rokosz). DNA contents were isolated with use of DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit (QIAGEN). Next Generation Sequencing was performed by Genomed S.A. (Warsaw) in the MiSeq 2000 platform (Illumina Inc., San Diego, CA, USA). A wide variety of endophytic microbiome was found in terms of wheat species and the host organism. Significant differences in the amount of operational taxonomic units (OTU) were noted for the following bacterial genera: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Janthinobacterium* and *Pedobacter*. It was also noted that the tested wheat species have three common genera of endophytic microorganisms: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Janthinobacterium*. Metagenomic analysis revealed that specific endophytic microbes are colonized by: *Paenibacillus* sp. - *T. avestivum* (cv. Hondia) and *Pedobacter* sp., as well as *Duganella* sp. - *T. spelt (*cv. Rokosz). Determination of the structure and diversity of endophytic community of wheat can contribute to their potential use of biotechnology, especially in the aspect of use them as plant probiotics.

Rezystom miejskiego jeziora rekreacyjnego na przykładzie Jeziora Kierskiego

Joanna Mokracka, Ryszard Koczura

Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Intensywne i niekontrolowane stosowanie antybiotyków w lecznictwie, rolnictwie i hodowli zwierząt spowodowało pojawienie się szczepów bakterii opornych na antybiotyki i genów oporności w środowisku. Jezioro Kierskie jest największym zbiornikiem wodnym Poznania i popularnym miejscem rekreacji i uprawiania sportów wodnych. Celem badań było określenie występowania genów oporności na antybiotyki β-laktamowe (*bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{GES}$, *bla*$_{SHV}$, *bla*$_{TEM}$, *bla*$_{OXA}$), tetracykliny (*tet*A, B i M) i genu integrazy klasy 1 (*intI1*) w genomach bakterii wyhodowanych z wody i osadu jeziora Kierskiego i w całkowitym DNA izolowanym z ww. próbek. Częstość występowania szczepów *intI1* wśród bakterii hodowalnych wynosiła 1,46% (woda) i 0,5% (osad), podczas gdy częstość występowania genu *intI1* w metagenomie była równa 0,13% w wodzie i 0,31% w osadzie. W genomach bakterii wytwarzających β-laktamazy typu ESBL najczęściej identyfikowanymi były *bla*$_{CTX-M}$ i *bla*$_{OXA}$, z kolei w metagenomie najliczniej i z największą częstością występował gen *bla*$_{TEM}$, a najmniej licznie *bla*$_{SHV}$. Częstość występowania genów *tet* w metagenomie wodnym mieściła się w przedziale 0,006% (*tet*B) do 0,087% (*tet*A), natomiast w metagenomie osadu od 0,009% (*tet*A) do 0,076% (*tet*M). Porównanie liczby kopii i częstości genów w wodzie i osadzie wykazało silną korelację w przypadku genów *bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{TEM}$, *tet*(A) i *tet*(B). Analizowane geny występowały z wyższą częstością w metagenomie wody.

Praca sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu 2011/03/B/NZ9/00070.

Resistome of a municipal recreational lake – the case of Kierskie Lake

Intensive and uncontrolled use of antibiotics in medicine, agriculture and animal breeding has led to the emergence of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes in the environment. Kierskie Lake is the biggest water reservoir in Poznań and a popular place for recreation and water sports. The aim of the study was to determine the occurrence of genes conferring resistance to β-lactam antibiotics ((*bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{GES}$, *bla*$_{SHV}$, *bla*$_{TEM}$, and *bla*$_{OXA}$), tetracyclines as well as class 1 integron integrase gene (*intI1)* in the genomes of bacteria isolated from the water and sediment of Kierskie Lake, and in total DNA isolated from those samples. The frequency of *intI1* carriage among culturable heterotropic bacteria was 1.46% in water and 0.5% in sediment. The abundance of *intI1* in the metagenome was lower and amounted to 0.13% in water and 0.31% in sediment. The *bla*$_{CTX-M}$ and *bla*$_{OXA}$ genes were most often identified in the genomes of ESBL-producing bacteria isolated from the water and sediment. In the metagenome, the most abundant gene was *bla*$_{TEM}$ and the least – *bla*$_{SHV}$. The abundance of *tet* genes ranged from 0.006% (*tet*B) to 0.087% (*tet*A) in the water metagenome and from 0.009% (*tet*A) to 0.076% (*tet*M) in the sediment metagenome. Comparison of the copy number and abundance of the genes in water and sediment showed strong correlation in the case of *bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{TEM}$, *tet*(A), and *tet*(B) genes. The abundance of the genes analyzed was higher in the case of the water metagenome.

This work was supported by grant no. 2011/03/B/NZ/00070 from National Science Centre, Poland.

Biotechnologiczny potencjał społeczności mikroorganizmów wyizolowanej z osadu zbiornika zapadliskowego „Szczecin"

Anna Pytlak[1], Anna Szafranek-Nakonieczna[1], Adam Kubaczyński[2], Jarosław Grządziel[3], Anna Gałązka[3] , Magdalena Hunicz[1], Zofia Stępniewska[1]

[1]Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, ul. Konstantynów 1I, 20-708 Lublin, tel. (0-81) 4545460, e-mail:anna.szafranek@kul.pl

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

[3]Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

Hodowla na sztucznym podłożu redukuje różnorodność biologiczną, a w konsekwencji może zmniejszyć także zdolności metaboliczne społeczności mikrooganizmów. Z drugiej jednak strony, ukierunkowana selekcja składników medium hodowlanego umożliwia przebudowę społeczności poprzez zwiększenie liczebności mikroorganizmów charakteryzujących się pożądanymi cechami przy jednoczesnej eliminacji konkurencyjnych. Przedmiotem pracy było określenie optymalnych warunków hodowli metanogenów. Mikroorganizmy te charakteryzują się powolnym wzrostem i z tego względu ich liczba może być czynnikiem limitującym produkcję biogazu. Obiekt badań stanowiła społeczność mikroorganizmów wyizolowana z osadu dennego zbiornika zapadliskowego „Szczecin", której potencjał metanogeniczny i skład analizowano na 5 podłożach zróżnicowanych pod względem źródła węgla. Na każdym z nich przeprowadzono serię 3 pasaży, zaszczepiając świeżą pożywkę inokulatem w proporcji 49:1. Wykazano, iż optymalną temperaturą dla stymulacji aktywności metanogenicznej (MGA) jest 30^{o}C. Przyrost MGA, wraz z zaawansowaniem hodowli stwierdzono jedynie w inkubacjach prowadzonych w atmosferze H_2/CO_2, (4:1). Analiza metagenomiczna wykazała iż w warunkach tych najliczniej reprezentowane są metanogeny należące do rodzaju *Methanomicrobium*. Odkrycia te dają nam nowy wgląd w ekofizjologię tych ważnych dla przemysłu mikroorganizmów i mogą pomóc w znalezieniu remedium na limitację w produkcji biogazu poprzez bioaugmentację metanogenami.

Biotechnological potential of microorganisms community isolated from bottom sediments of artificial lake "Szczecin"

Cultivation reduces much of the initial biodiversity and as a consequence may impair metabolic capabilities of the microbial community. On the other hand, the targeted selection of the components of the breeding medium makes it possible to rebuild the community by increasing the number of microorganisms characterized by desirable features while eliminating competitors. The subject of the work was to determine the optimal conditions for methanogen cultivation. These microorganisms are characterized by slow growth and therefore their number may be a limiting factor in the production of biogas. The research object was a community of microorganisms isolated from the bottom sediment of the "Szczecin" reservoir, whose methanogenic potential and composition was analyzed in media diversified in terms of the carbon source. On each of them, a series of 3 passages was carried out, inoculating fresh medium with inoculum in a ratio of 49:1. It has been shown that the optimal temperature for stimulation of methanogenic activity (MGA) is 30^{o}C. The MGA increase, along with the advancement of the culture was found only in incubations carried out under H_2/CO_2 atmosphere (4:1). Metagenomic analysis showed that metanogens belonging to the genus *Methanomicrobium* are the most represented in these conditions. These discoveries give us a new insight into the ecophysiology of these important microorganisms and can help in finding a remedy for the reduction of biogas production by bioaugmentation with methanogens.

Badania współfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (nr 2015/17/B/NZ9/01662)

Rola wydzielin korzeniowych *Festuca ovina* w desorpcji kadmu unieruchomionego przez organiczne i nieorganiczne sorbenty

Małgorzata Majewska, Karolina Król

Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Celem przeprowadzonych badań było określenie wydajności desorpcji kadmu zimmobilizowanego przez getyt (11,1 mg g^{-1}), montmorylonit (10,5 mg g^{-1}), kwasy huminowe (6,7 mg g^{-1}), biomasę *Chryseobacterium* DEM Bc1 (9,4 mg g^{-1}) i *Trichoderma koningiopsis* (8,4 mg g^{-1}) oraz korzenie *Festuca ovina* (6,0 mg g^{-1}) przez roztwór związków mineralnych (roztwór Hoaglanda) oraz przez roztwór Hoaglanda wzbogacony w wydzieliny korzeniowe, który został zebrany po zakończeniu hodowli hydroponicznej *F. ovina*. Mineralny roztwór Hoaglanda uruchamiał istotnie większe ilości Cd związanego przez montmorylonit, getyt, kwasy huminowe oraz korzenie, natomiast istotnie mniejsze z biomasy bakteryjnej i grzybowej, niż roztwór Hoaglanda wzbogacony w wydzieliny korzeniowe. Temperatura (4, 14 i 22^{o}C) oraz czas trwania inkubacji (24 lub 96 godzin) również były czynnikami istotnie kontrolującymi desorpcję Cd a siła ich wpływu na ten proces była różna w zależności od rodzaju sorbentu i roztworu uruchamiającego metal. Na podstawie wydajności desorpcji Cd testowane sorbenty można uszeregować w następujący sposób: biomasa mikrobiologiczna > kwasy huminowe > getyt > montmorylonit > korzeń. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że Cd zakumulowany w korzeniach *F. ovina* był najmniej podatny na uruchamianie przez organiczne i mineralne związki obecne w roztworze a wydzieliny korzeniowe tej trawy ograniczyły mobilizację kadmu z innych składników fazy stałej gleby zwiększając tym samym jego stabilizację.

The role of Festuca ovina root secretions in cadmium desorption immobilized by organic and inorganic sorbents

The aim of the study was to determine the efficiency of cadmium desorption, which was immobilized with goethite (11.1 mg g^{-1}), montmorillonite (10.5 mg g^{-1}), humic acids (6.7 mg g^{-1}), biomass of *Chryseobacterium* DEM Bc1 (9.4 mg g^{-1}) and *Trichoderma koningiopsis* (8.4 mg g^{-1}), and roots of *Festuca ovina* (6.0 mg g^{-1}), using a solution of mineral compounds (Hoagland's solution) and Hoagland's solution enriched in root secretions, which was collected after hydroponic growing of *F. ovina*. Hoagland's mineral solution mobilized significantly greater amounts of Cd from montmorillonite, goethite, humic acids and roots, but significantly less from bacterial and fungal biomass, than Hoagland's solution enriched with root secretions. The temperature (4, 14 and 22°C) and the time of incubation (24 or 96 hours) were also factors that significantly controlled Cd desorption and their impact on this process varied depending on the type of sorbent and solution used to release this metal. On the basis of Cd desorption efficiency, the tested sorbents can be arranged in the following way: microbial biomass > humic acids > goethite > montmorillonite > roots. The results of the conducted research indicate that the Cd accumulated in the roots of *F. ovina* was the least susceptible to mobilization by organic and mineral compounds present in the solution, and the root secretions of this grass limited the mobilization of cadmium from other components of the soil solid phase thereby increasing its stabilization.

Charakterystyka i potencjał bioremediacyjny kadmoopornego szczepu *Chryseobacterium* DEM Bc1

Małgorzata Majewska[1], Sylwia Wdowiak-Wróbel[2], Monika Marek-Kozaczuk[2], Artur Nowak[1], Jolanta Jaroszuk-Ściseł[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, [2]Zakład Genetyki i Mikrobiologii Ogólnej,
Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Szczep DEM Bc1 został wyizolowany z ryzosfery żyta (*Secale cereale*) uprawianego na glebie lessowej nieskażonej metalami ciężkimi. Jest to szczep: (1) o wysokiej oporności na Cd (100 µg ml^{-1} płynnego podłoża), (2) wydajnie immobilizujący Cd z wodnych roztworów (od 10 do 42 mg g^{-1} s.m.), (3) istotnie stymulujący przyrost świeżej i suchej masy części nadziemnych *Festuca ovina*, jednak bez wpływu na masę korzeni (gleba nieskażona), (4) zwiększający akumulację metalu w korzeniach trawy, bez translokacji Cd do części nadziemnych (hodowla hydroponiczna na podłożu uzupełnionym 5 µg Cd ml^{-1}). Szczep DEM Bc1 uruchamia fosfor z nierozpuszczalnych fosforanów, produkuje siderofory (związki ułatwiające pobieranie Fe^{+3}), kwas 3-indolilooctowy (fitohormon) oraz wykazuje aktywność proteolityczną, ureolityczną i amylolityczną. Sekwencja genu 16S rRNA szczepu DEM Bc1 wykazała wysoki stopień podobieństwa z sekwencjami bakterii rodzaju *Chryseobacterium*, przede wszystkim szczepów: *C. joostei* DSM16927 (97,2%), *C. jejuense* DSM19299 (97,0%), *C. indologenes* NBRC 14944 (97,0%) oraz *C. culicis* DSM 23031 (96,5%). Dla potwierdzenia pozycji taksonomicznej szczepu DEM Bc1 wykonano również analizę MLSA trzech genów metabolizmu podstawowego, tzw. housekeeping genes, *recA*, *rpoB* oraz *gyrB*. Przeanalizowana sekwencja o długości ponad 3100 pz potwierdziła najwyższe podobieństwo sekwencji szczepu DEM Bc1 do sekwencji *C. culicis* DSM 23031, *C. jejuense* DSM 19299, *C. indologenes* NBRC 14944 oraz *C. joostei* DSM 16927 odpowiednio na poziomie 91,9%, 90,5%, 90,0% oraz 89,9%.

Characteristic and bioremediation potential of cadmium resistant strain of *Chryseobacterium* DEM Bc1

The DEM Bc1 strain was isolated from the rhizosphere of the rye (*Secale cereale*) grown in loess soil not contaminated with heavy metals. This strain is: (1) highly resistant to Cd (100 µg ml^{-1} of liqiud medium), (2) quickly and efficiently immobilizing Cd from aqueous solutions (from 10 to 42 mg g^{-1} s.m.), (3) significantly rising the fresh and dry biomass of *Festuca ovina* shoots, however, without affecting the root biomass (unpolluted soil), (4) increasing the accumulation of Cd in grass roots, without its translocation to the shoots (hydroponic culture supplemented with 5 µg Cd ml^{-1}). The strain DEM Bc1 is capable to mobilize phosphorus from insoluble phosphates, produces siderophores (compounds mediating of the iron uptake) and indole-3-acetic acid (phytohormone). It demonstrates proteolytic, ureolytic and amylolytic actvities. The 16S rRNA gene sequence of the DEM Bc1 strain showed a high degree of similarity with the sequences of bacteria of the genus *Chryseobacterium,* especially to *C. joostei* DSM16927 (97.2%), *C. jejuense* DSM19299 (97.0%), *C. indologenes* NBRC 14944 (97, 0%) and *C. culicis* DSM 23031 (96.5%). To confirm the taxonomic position of the DEM Bc1 strain, MLSA analysis of three genes of basic metabolism, the so-called “housekeeping genes”, *recA*, *rpoB* and *gyrB* were performed. The analyzed sequence, over 3100 bp in length, confirmed the highest sequence similarity of the DEM Bc1 strain to the sequence *C. culicis* DSM 23031, *C. jejuense* DSM 19299, *C. indologenes* NBRC 14944 and *C. joostei* DSM 16927 at 91.9%, 90.5%, 90.0% and 89.9%, respectively.

Wpływ oksydacji na skład i aktywność konsorcjów metanogenicznych

Anna Szafranek-Nakonieczna[1], Anna Pytlak[1], Agnieszka Kuźniar[1], Paulina Onopiuk[1], Kinga Salwa[1], Krystian Pawlak[1], Jarosław Grządziel[2], Anna Gałązka[2], Andrzej Górski[1], Zofia Stępniewska[1]

[1]Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, ul. Konstantynów 1I, 20-708 Lublin, tel. (0-81) 4545460, e-mail:anna.szafranek@kul.pl
[2]Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

*Z*e względu na wrażliwość na oksydację enzymów warunkujących aktywność *Archaea, conditio sine qua non* zaistnienia metanogenezy jest beztlenowe środowisko. Odporność konsorcjów metanogenicznych na stres tlenowy, przejawiający się m. in. zdolnością do redukcji środowiska jest zatem bardzo ważną cechą przemawiającą za możliwością ich biotechnologicznego zastosowania. Celem prezentowanych badań była ocena wpływu natlenienia na skład oraz wydajność formowania CH_4 przez konsorcja metanogeniczne pochodzące z osadów dennych i wód kopalnianych (Kopalnia Bełchatów). Mikroorganizmy hodowano na podłożu płynnym wzbogaconym w trypton i ekstrakt z drożdży, w atmosferze zawierającej CO_2/H_2 (1:4). Preinkubowane hodowle poddano czasowemu natlenieniu (od 0 do 24h) po czym odtworzono atmosferę anaerobową. Zmiany aktywności metanogenicznej w następstwie stresu oksydacyjnego kontrolowano chromatograficznie przez 7 dni (GC 3800, Varian). Natlenienie podłoża badano przez pomiar potencjału oksydoredukcyjnego i stężenia tlenu rozpuszczonego. Analizę metagenomiczną społeczności wykonano w oparciu o sekwencjonowanie obszarów V3-V4 genu 16S rRNA (Illumina, Genomed S.A). Przeprowadzone badania wykazały, iż stres oksydacyjny działa hamująco na mikroorganizmy beztlenowe jedynie w pierwszych dniach natlenienia, obie badane społeczności mimo początkowej inhibicji odzyskiwały zdolność do formowaniu CH_4 osiągając efektywności porównywalne lub wyższe wydajności w dniu 7.

Badania współfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (nr 2015/17/B/NZ9/01662)

The effect of oxygenation on composition and activity of methanogenic consortia

Due to the sensitivity to the oxidation of enzymes determining *Archaeal* activity, *conditio sine qua non* of metanogenesis is an anaerobic environment. Resistance of the methanogenic consortia to oxygen stress, manifested, among others the ability to reduce the environment is therefore a very important feature when considering their biotechnological application.The aim of the presented research was to test the effect of oxygenation on compositiom and efficiency in CH_4 formation by methanogenic consortia originating from lake bottom sediments and waters accompanying lignite seams (Bełchatów coalmine) Consortia were grown on liquid medium enriched in yeast extract and tryptone, under CO_2/H_2 atmosphere (1:4). Preincubated cultures were temporarily oxygenated (from 0 to 24 h) after which an anaerobic conditions were re-established. Changes in methanogenic activity being a consequence of stress were monitored chromatographically (GC 3800, Varian). The medium aeration statuswas monitored by measuring the redox potential and dissolved oxygen. Metagenomic analysis were performed based on V3-V4 fragment of the 16S rRNA gene (Illumina, Genomed). The research showed that oxidative stress inhibits anaerobic microorganisms only in the first days of oxygenation, both studied communities, despite initial inhibition, regained their ability to form CH_4, achieving comparable or higher efficiency on day 7.

Skład zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających substraty do fermentacji metanowej oraz osady pofermentacyjne

Karolina Oszust, Magdalena Frąc

[1]Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, e-mail: koszust@ipan.lublin.pl, m.frac@ipan.lublin.pl

Mając na uwadze potrzebę zapewnienia opłacalnych substratów do procesu fermentacji beztlenowej, badano cztery różne surowce: odpady owocowe, osad z oczyszczalni ścieków mleczarskich, kiszonkę z trawy oraz kiszonkę z kukurydzy. Postawiono hipotezę, że zbiorowiska mikroorganizmów zasiedlających te substraty różnią się znacząco. Określono w jaki sposób początkowy skład zbiorowisk mikroorganizmów, w kontekście właściwości fizykochemicznych substratów, może wpływać na wydajność produkcji biogazu. Określono także skład zbiorowisk metanogenów występujących w osadach pofermentacyjnych. Największy uzysk biogazu zanotowano dla kiszonki z kukurydzy i mniejsze, kolejno dla kiszonki z trawy, odpadów owocowych i osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich. Odnotowano, że kiszonkę z kukurydzy zasiedlały przede wszystkim przedstawiciele rodziny Acetobacteraceae i Lactobacillaceae, podczas gdy obecność Bacillaceae i Planococcaceae stwierdzono w kiszonce z trawy. Osad ścieków mleczarskich był w większości zasiedlany przez Xanthomonadaceae, Enterococcaceae i Nocardioidaceae. Przedstawicieli rodzin Streptophyta i Rickettsiales wykryto w odpadach owocowych. Badane osady pofermentacyjne nie różniły się składem archeonów metanogennych.

Microbial community composition of feedstock substrates and the resulting digestate residues

Bearing in mind the need to find waste-based and profitable substrates for anaerobic digestion, there were four different feedstocks investigated. These were as follows: fruit waste, dairy sewage sludge, grass silage, corn silage. It has been hypothesized that the microbial community compositions of these substrates differ significantly from each other. The focal points of our objectives were the following: to evaluate the physicochemical properties of substrates that determine particular microbial community composition; to determine how the initial substrates for microbial community composition lead to biogas yield effectiveness; to determine the methanogens composition, which occur in digestate residues, following biogas production. Thus, the biogas yield kinetic study of substrates was linked to the physiochemical parameters and microbial community composition of substrates and with their corresponding residues. The order of biogas production, graded from high to low was as follows: corn silage, grass silage, fruit waste and dairy sewage sludge. The Acetobacteraceae and Lactobacillaceae families occurred most commonly in corn silage, while Bacillaceae and Planococcaceae were detected in the greatest numbers in grass silage. Dairy sewage sludge was mostly inhabited by Xanthomonadaceae, Enterococcaceae and Nocardioidaceae, but Streptophyta and Rickettsiales were detected in fruit waste. Aceticlastic and hydrogenotrophic methanogens were quantified in comparative amounts in all residues tested.

Scientific work was funded from the budget for science by The National Centre for Research and Development in Poland. LIDER 048/L-2/10. Programme 2011-2014.

Zmiany mikrobiomu bakteryjnego w ryzosferze bobiku pod wpływem pentachlorofenolu

Anna Siczek [1], Magdalena Frąc [1], Agata Gryta [1], Karolina Oszust [1], Stanisław Kalembasa[2], Dorota Kalembasa[2]

[1]Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk
[2]Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

Pentachlorofenol (PCP) jest stosowany jako herbicyd i środek owadobójczy oraz środek konserwujący drewno. Ma szkodliwy wpływ na ekosystem, w tym na zdrowie ludzkie.

Celem przeprowadzonych badań polowych było określenie wpływu pentachlorofenolu na skład mikrobiomu bakteryjnego w ryzosferze bobiku. Skład bakterii analizowano przy użyciu techniki sekwencjonowania nowej generacji (NGS) na bazie hiperzmennego regionu V3-V4 genu 16S rRNA. Sekwencjonowanie przeprowadzono w analizatorze genetycznym MiSeq (Illumina Inc., USA), w technologii paired-end, 2x250 nt, z użyciem kitu v2 MiSeq. Sekwencje zostały pogrupowane w OTUs (Operational Taxonomic Units) na podstawie 97% podobieństwa. W glebie kontrolnej otrzymano 57027 i 48854 OTUs odpowiednio w fazach 5-6 liści (T1) i kwitnienia (T2), natomiast po zastosowaniu PCP wartości te wyniosły odpowiednio 53435 i 42456. Niezależnie od terminu i skażenia PCP, w ryzosferze bobiku dominowały bakterie rzędu *Actinomycetales*. Ponadto, wśród innych dominujących bakterii wykazano u roślin kontrolnych obecność bakterii rzędu *Rhizobiales* i *Acidimicrobiales* (T1) oraz *Rhizobiales* i *Burkholderiales* (T2), zaś w obecności PCP *Gaiellales* i *Rhizobiales* (T1) oraz *Pseudomonadales*, *Sphingobacteriales* i *Burkholderiales* (T2). Otrzymane wyniki dostarczyły informacji na temat zmian składu zbiorowiska bakteryjnego ryzosfery pod wpływem pentachlorofenolu w czasie wzrostu bobiku.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki, projekt nr 2016/21/B/NZ9/03588

Changes in bacterial microbiome in faba bean rhizosphere under the influence of pentachlorophenol

Pentachlorophenol (PCP) is used as a herbicide and insecticide as well as a wood preservative. It has a detrimental effect on the ecosystem, including human health. This field experiment was conducted to determine the effect of pentachlorophenol on the composition of bacterial microbiome in faba bean rhizosphere. The bacterial microbiome was analyzed using the next generation sequencing technique (NGS) based on the V3-V4 hypervariable region of the 16S rRNA gene. Sequencing was performed using MiSeq platform (Illumina Inc., USA) in PE reads 2x250 bp with a v2 MiSeq regent kit. The sequences were clustered in OTUs (Operational Taxonomic Units) based on 97% similarity. In the control soil 57027 and 48854 OTUs were obtained in the phases of 5-6 leaves (T1) and flowering (T2), respectively, whereas after PCP application, these values amounted to 53435 and 42456, respectively. Regardless of the term and PCP contamination, the *Actinomycetales* dominated in the faba bean rhizosphere. In addition, among other dominant bacteria, the presence of bacteria of the order of *Rhizobiales* and *Acidimicrobiales* (T1) and *Rhizobiales* and *Burkholderiales* (T2) was found in control plants, while in the presence of PCP *Gaiellales* and *Rhizobiales* (T1) and *Pseudomonadales*, *Sphingobacteriales* and *Burkholderiales* (T2). The obtained results provided information on changes in the composition of bacteria in the rhizosphere under the influence of pentachlorophenol during faba bean development.

This work was funded by the National Science Centre in Poland, project no 2016/21/B/NZ9/03588

Analiza zmiany składu mikrobiologicznego składowiska odpadów pohutniczych z zastosowaniem metody elektroforezy w gradiencie środka denaturującego (DGGE)

Sylwia Siebielec[1], Grzegorz Siebielec[2], Jarosław Grządziel[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; ssiebielec@iung.pulawy.pl
[2]Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

Składowiska odpadów pohutniczych (żużli i odpadów poflotacyjnych) i gleby o ekstremalnie wysokich zawartościach cynku, ołowiu, kadmu i arsenu stanowią poważny środowiskowy problem w obszarach o dużym zagęszczeniu przemysłu hutniczego, czego przykładem jest obszar Górnego Śląska. Celem pracy była analiza zmiany składu mikrobiologicznego składowiska odpadów pohutniczych wobec wpływu zastosowanych dodatków doglebowych (osadu ściekowego i wapna odpadowego). Określono również wpływ zróżnicowanego nawożenia, na dynamikę wzrostu wybranych grup drobnoustrojów oraz aktywność enzymatyczną badanych gleb, skorelowaną z parametrami fizykochemicznymi. Próbki glebowe przeznaczone do badań pobrano w roku 2016 z głębokości 0-20cm w 3 powtórzeniach spod traw w wieloletnim doświadczeniu polowym (rekultywacja w 1997 r.) na składowisku w Piekarach Śląskich. Analiza z zastosowaniem metody elektroforezy w gradiencie środka denaturującego (DGGE) pozwoliła zobrazować różnorodność mikroorganizmów w zależności od zastosowanych dawek nawożenia.

Praca finansowana w ramach projektu „Rola mikroorganizmów w zasiedlaniu składowisk odpadów pohutniczych przez rośliny oraz ich wpływ na biodostępność pierwiastków śladowych"; Preludium 9, UMO-2015/17/N/ST10/03182 oraz realizowana w ramach zadania PW. 1.4. „Ocena i kształtowanie bioróżnorodności środowiska glebowego oraz aktywności mikrobiologicznej gleb z uwzględnieniem różnych warunków siedliskowych i systemów gospodarowania".

Analysis of the change in the structure of microbial populations of the smelter wasteland using the denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)

Smelter slag and post-flotation wastelands and soils with extremely high levels of zinc, lead, cadmium and arsenic represent a serious environmental problem in areas of smelting industry, as exemplified by the Upper Silesia region. The aim of the work was to analyze the changes in the composition of microbiological populations of the smelter wasteland top layer as response to the soil amendments tested (sewage sludge and waste lime). The influence of various treatments on the growth dynamics of selected groups of microorganisms and the enzymatic activity was measured and correlated with the physicochemical parameters of the constructed soil. Soil samples were collected in 2016 in three replications from the depth of 0-20 cm from the long-term reclamation experiment established in 1997 at the wasteland in Piekary Śląskie. Analysis using the denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) enabled evaluation of the diversity of microorganisms as dependent on the applied rates of soil amendments.

Research within the project "Role of microorganisms in colonization of smelter wastelands by plants and their impact on bioavailability of trace elements"; Preludium 9, UMO-2015/17/N/ST10/03182 and the long-term IUNG-PIB programme, task 1.4. "Assessment and development of soil biodiversity and microbiological activity of soils taking into account various habitat conditions and agricultural production systems".

Identyfikacja bakterii wiążących azot pochodzących ze składowiska odpadów pohutniczych metodą sekwencjonowania 16S rDNA oraz genotypowanie szczepów metodą PCR-MP

Sylwia Siebielec[1], Grzegorz Siebielec[2]

[1]Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; ssiebielec@iung.pulawy.pl, [2]Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

Składowiska odpadów pohutniczych o ekstremalnych zawartościach cynku, ołowiu, kadmu i arsenu stanowią poważny problem na obszarze Górnego Śląska. Zanieczyszczenie gleb metalami może powodować toksyczność dla roślin i mikroorganizmów glebowych ograniczając tym samym zdolność gleby do pełnienia podstawowych funkcji. Aktywność bakterii wiążących N jest niezwykle ważna dla rozwoju pokrywy roślinnej na tych terenach. W roku 2016 pobrano z głębokości 0-20 cm w 3 powtórzeniach próbki pochodzące z wieloletniego doświadczenia polowego (rekultywacja w 1997 r.) na składowisku w Piekarach Śląskich. Materiał przeznaczony do badań pochodził z terenu podzielonego na 6 transektów, oznaczających inną kombinację dawek osadu ściekowego i wapna odpadowego. Metodą rozcieńczeń glebowych określono ogólną liczebność bakterii z rodzaju Azotobacter, wyrażoną jako liczba jednostek tworzących kolonie (jtk) w 1 gramie powietrznie suchej masy gleb. Następnie przeprowadzono identyfikacja gatunkową bakterii poprzez sekwencjonowanie uzyskanego produktu amplifikacji fragmentu genu 16S rDNA oraz genotypowanie szczepów metodą PCR MP. W wyniku genotypowania szczepów diazotrofów uzyskano 7 różnych profili elektroforetycznych.

Praca finansowana w ramach projektu „Rola mikroorganizmów w zasiedlaniu składowisk odpadów pohutniczych przez rośliny oraz ich wpływ na biodostępność pierwiastków śladowych"; Preludium 9, UMO-2015/17/N/ST10/03182 oraz realizowana w ramach zadania PW. 1.4. „Ocena i kształtowanie bioróżnorodności środowiska glebowego oraz aktywności mikrobiologicznej gleb z uwzględnieniem różnych warunków siedliskowych i systemów gospodarowania".

Identification of nitrogen-fixing bacteria from the smelter wasteland using 16S rDNA sequencing method and genotyping of strains using PCR-MP

Smelter wastelands with extreme contents of zinc, lead, cadmium and arsenic constitute a serious problem in the area of Upper Silesia. Soil contamination with metals can cause toxicity to plants and soil microorganisms, limiting the soil ability to perform basic functions. The activity of N-binding bacteria is extremely important for the development of the plant cover in these areas. In 2016, samples taken from a long-term field experiment (reclamation in 1997) at a waste heap in Piekary Śląskie were collected from a depth of 0-20 cm in three replications. The material was collected from 6 transects representing different combinations of sewage sludge and by-product lime rates. The method of plate dilutions was used to determine the total number of Azotobacter which was expressed as the number of colonies (CFU) in 1 gram of air dried soil matter. Then bacterial species identification was performed by 16S rDNA sequencing and PCR genotyping of strains. As a result of the genotyping of the diazotroph strains, 7 different electrophoretic profiles were obtained.

Research within the project "Role of microorganisms in colonization of smelter wastelands by plants and their impact on bioavailability of trace elements "; Preludium 9, UMO-2015/17/N/ST10/03182 and the long-term IUNG-PIB programme, task 1.4. "Assessment and development of soil biodiversity and microbiological activity of soils taking into account various habitat conditions and agricultural production systems".

Synteza glukanaz i chitynaz indukowana ścianą komórkową fitopatogenicznego szczepu *Fusarium culmorum* przez genetycznie zidentyfikowane szczepy *Trichoderma* spp. (*T. koningiopsis, T. velutinum*)

Renata Tyśkiewicz[1], Artur Nowak[1], Grzegorz Janusz[2], Anna Pawlik[2], Małgorzata Majewska[1], Jolanta Jaroszuk-Ściseł[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, [2]Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Liczne gatunki grzybów należące do rodzaju *Trichoderma* spp. posługują się mechanizmem mykopasożytnictwa nekrotroficznego, na który składa się bezpośrednie fizyczne oddziaływanie strzępek obu partnerów oraz pośrednie działanie enzymów litycznych. Liza składników grzybowych ścian komórkowych (CWF) fitopatogenów zachodzi za pośrednictwem kompleksu enzymów CWDE (ang. *Cell Wall Degrading Enzymes*). Główną rolę w degradacji CWF odgrywają β-chitynazy oraz 1,3-β-glukanazy katalizujące hydrolizę wiązań glikozydowych podstawowych składników CWF: glukanów i chityny. Celem przeprowadzonych badań była ocena zdolności trzech szczepów *Trichoderma* spp. zakwalifikowanych na podstawie analizy sekwencji rRNA do dwóch gatunków *T. koningiopsis* (TK3Ag0, TKEPSK356) oraz *T. velutinum* (TVEPF48) do syntezy enzymów degradujących CWF: glukanaz i chitynaz. Zdolność do syntezy tych enzymów zbadano w długotrwałych hodowlach płynnych wytrząsanych (150 rpm) szczepów *Trichoderma* spp. na mineralnym podłożu RB ze zliofilizowaną CWF patogenicznego szczepu *Fusarium culmorum* FC37 wprowadzoną jako jedyne źródło węgla w stężeniu 0,2%. Badane szczepy *Trichoderma* spp. wykazały zdolność do syntezy obu enzymów, których aktywność stwierdzono w płynach uzyskanych w trzech terminach: po 5, 7 jak i 14 dniach hodowli, przy czym zaobserwowano tendencję wzrostu aktywności wraz z czasem hodowli. W hodowlach trzech szczepów zaobserwowano podobną aktywność β-1,3-glukanaz i była ona ponad 4 razy wyższa niż aktywność chitynaz. Aktywność chitynaz była najwyższa w hodowli szczepu *T. koningiopsis* TK3Ag0.

Synthesis of glucanases and chitinases induced by the cell wall of a phytopathogenic strain *Fusarium culmorum* by genetically identified *Trichoderma* spp. Strains (*T. koningiopsis, T. velutinum*)

Numerous species of fungi belonging to the genus *Trichoderma* spp. employ the necrotrophic mycoparasitism mechanism, which consists of direct physical interaction of hyphae of both partners and indirect action of lytic enzymes. Lysis of the fungal cell wall (CWF) of phytopathogens proceeds through the CWDE (*cell wall degrading* enzymes) complex. The most important role in the degradation of CWF is played by β-chitinases and 1,3-β-glucans, which catalyze the hydrolysis of glycosidic bonds of the basic CWF components: glucans and chitin. The aim of the study was to assess the ability of three strains of *Trichoderma* spp. classified on the basis of analysis of the rRNA sequence to two species *T. koningiopsis* (TK3Ag0, TKEPSK356) and *T. velutinum* (TVEPF48) to synthesize CWF degrading enzymes: glucanases and chitinases. The ability to synthesize these enzymes was tested in long-term liquid shaking cultures (150 rpm) of *Trichoderma* spp. on mineral RB medium with lyophilized CWF of the pathogenic strain *Fusarium culmorum* FC37 introduced as the sole carbon source at a concentration of 0.2%. The tested *Trichoderma* spp. strains demonstrated the ability to synthesize both enzymes, whose activity was found in fluids obtained at three terms: after 5, 7 and 14 days of culture, with a tendency to increase the activity along with the culture time. In cultures of three strains, the β-1,3-glucanase activity was similar, i.e. over 4 times higher than the activity of chitinases. Chitinase activity was the highest in the *T. koningiopsis* TK3Ag0 culture.

This study was financially supported by the project BS-P-11-010-18-2-07 (2018)

Aktywność enzymatyczna szlaków odporności roślin stymulowana trzema zidentyfikowanymi genetycznie szczepami *Trichoderma*

Renata Tyśkiewicz[1], Artur Nowak[1], Grzegorz Janusz[2], Anna Pawlik[2], Ewa Ozimek[1], Małgorzata Majewska[1], Jolanta Jaroszuk-Ściseł[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, [2]Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Odporność roślin typu SAR (*systemic acquired resistance*) charakteryzująca się obecnością kwasu salicylowego (SA) oraz białek patogenezozależnych (PR); ISR (*induced systemic resistace*) angażująca kwas jasmonowy (JA) i etylen (ET) oraz IR (*induced resistance*) może być indukowana elicytorami abiotycznymi i biotycznymi. Markerami świadczącymi o indukcji odporności są enzymy szlaku fenylopropanoidowego: liaza fenyloalaninowa (PAL) i tyrozynowa (TAL), katalaza (CAT) oraz białka PR o aktywnościach peroksydazy gwajakolowej (GPX), chitynazy (CHIT) i glukanazy (GLUK). Aktywność enzymów markerowych badano w korzeniach i łodygach siewek pszenicy. Odporność indukowano zawiesinami ($1x10^5$ ml^{-1}) zarodników trzech szczepów *Trichoderma: T. koningiopsis* EPSK356 i 3Ag0 oraz *T. velutinum* EPF48 oraz elicytorami komercyjnymi laminaryną i chitozanem (kontrole dodatnie) wprowadzonymi na sterylizowane powierzchniowo nasiona pszenicy, które inkubowano w ciemności przez okres 5 dni. Enzymy ekstrahowano 50 mM buforem fosforanowym o pH 7.5 (1mM EDTA, 1mM PMSF, 5mM askorbian sodu, 1% PVPP). W tkankach pszenicy indukowanej zarodnikami zaobserwowano wzrost aktywności markerów odporności zarówno wobec kontroli wodnej jak i kontroli pozytywnych. Aktywność GLUK i CHIT w tkankach indukowanych była ok. 10-krotnie wyższa niż w kontroli wodnej. Aktywność GLUK, PAL i GPX była wyższa w korzeniach niż łodygach, a CHIT, TAL i CAT wyższa w łodygach niż korzeniach. Aktywność poszczególnych markerów w tkankach korzeni i łodyg siewek pszenicy indukowanych szczepami *T. koningiopsis* lub szczepem *T. velutinum* była nawet 2-krotnie wyższa niż w odpowiednich tkankach kontroli pozytywnych indukowanych chitozanem czy laminaryną.

Enzymatic activity of plant resistance pathways stimulated by three genetically identified Trichoderma strains

Plant resistance SAR (systemic acquired resistance) characterized by the presence of salicylic acid (SA) and pathogenesis-related proteins (PR); ISR (induced systemic resistance), resistance can be induced by abiotic and biotic elicitors. Markers of resistance induction include enzymes of the phenylpropanoid pathway: phenylalanine (PAL) and tyrosine lyase (TAL), catalase (CAT), and PR proteins with guaiacol peroxidase (GPX), chitinase (CHIT) and glucanase (GLUK) activities.

The activity of marker enzymes was studied in the roots and stems of wheat seedlings. Resistance was induced with suspensions ($1x10^5$ ml^{-1}) of spores of three *Trichoderma* strains: *T. koningiopsis* EPSK356 and 3Ag0 and *T. velutinum* EPF48 as well as commercial elicitors with laminarin and chitosan (positive controls) introduced onto surface-sterilized wheat seeds incubated in the dark for 5 days. The enzymes were extracted with 50 mM phosphate buffer pH 7.5 (1mM EDTA, 1mM PMSF, 5mM sodium ascorbic, 1% PVPP). In the tissues of wheat induced with spores, an increase in the activity of resistance markers was observed compared with both the water control and positive controls. GLUK and CHIT activity in the induced tissues was about 10-times higher than in the water control. The activity of GLUK, PAL, and GPX was higher in roots than in stems, while CHIT, TAL, and CAT were higher in stems than in roots. The activity of individual markers in the tissues of the roots and stems of wheat seedlings induced by the *T. koningiopsis* or *T. velutinum* strains was even 2-times higher than in the respective tissues of the positive controls induced by chitosan or laminarin.

This study was financially supported by the project BS-P-11-010-18-2-07 (2018)

Analiza plazmidowego DNA pochodzącego z próbek wody z rzeki Wisły

Renata Wolinowska[1], Karolina Nowakowska[2]

[1]Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej , [2]Zakład Bioanalizy i Analizy Leków ,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Zjawisko narastania lekooporności bakterii jest obiektem intensywnych badań na całym świecie. Zasadniczą rolę w przenoszeniu genów lekooporności między komórkami bakterii odgrywają plazmidy bakteryjne oraz inne ruchome elementy genetyczne. Istotnym elementem uczestniczącym w rozprzestrzenianiu lekooporności są plazmidy obecne w bakteriach bytujących w środowiskach naturalnych. Zjawisko to jest jeszcze słabo poznane. Z próbek wody z rzeki Wisły pobranych poniżej oczyszczalni ścieków Czajka (Warszawa) wyizolowano całkowity DNA, który użyto do transformacji szczepów laboratoryjnych *Escherichia coli*. Transformaty selekcjonowano na podłożach zawierających ampicylinę lub kanamycynę. Dla trzech z uzyskanych w ten sposób plazmidów oznaczono całkowitą sekwencję nukleotydową. Zostały oznaczone pA2, pA5, pK1, mają wielkość 6924, 8790 i 9948 pz. Plazmid pA5 zawiera fragmenty DNA o wysokim podobieństwie sekwencji (84%) do genomu *Haemophilus ducreyi*. Plazmid pA2 niesie geny bla_{TEM-1} i bla_{CMY-4}, fragment pozostałej sekwencji wykazuje wysokie podobieństwo (99%) do plazmidów izolowanych z klinicznych szczepów *E. coli* i *Salmonella enterica*. Plazmid pK1 wykazuje wysokie podobieństwo (90%) do plazmidu pQ7 pochodzącego z klinicznego szczepu *E. coli* wyizolowanego w Szwajcarii. W plazmidzie znajduje się integron klasy 3, który zawiera dodatkową kasetę kodującą oporność na trimetoprim.

Analysis of plasmid DNA isolated from the Vistula river

The phenomenon of increase of bacterial drug-resistance is a research problem addressed worldwide. The crucial role in drug-resistance genes transfer between bacterial cells is played by bacterial plasmids as well as mobile genetic elements. Plasmids present in environmental bacteria are very important for this phenomenon, which is still insufficiently known. From samples of water collected from the Vistula river, downstream of sewage plant Czajka (Warsaw), complete DNA was isolated and used for transformation of laboratory strains of *Escherichia coli*. The transformants were selected on medium supplemented with ampicillin or kanamycin. Complete nucleotide sequence has been obtained for three selected plasmids. The plasmids are marked as pA2, pA5, pK1 and are, respectively, 6924, 8790 and 9948 bp long. The plasmid pA5 contains a sequence very similar (84%) to genome of *Haemophilus ducreyi*. Plasmid pA2 contains genes bla_{TEM-1} and bla_{CMY-4}, part of the rest of the sequence shows very high similarity (99%) to plasmids isolated from clinical strains of *E. coli* and *Salmonella enterica*. Plasmid pK1 expresses high similarity (90%) to plasmid pQ7 that was found in clinical strain of *E. coli* isolated in Switzerland. The plasmid contains a class 3 integron with additional cassette encoding resistance to trimethoprim.

Metagenomy glebowe (rodziny i rodzaje) wskaźnikiem degradacji bioróżnorodności w glebach Lubelszczyzny

Agnieszka Wolińska[1], Agnieszka Kuźniar[1], Urszula Zielenkiewicz[2], Artur Banach[1], Zofia Stępniewska[1], Mieczysław Błaszczyk[3]

[1]Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Instytut Biotechnologii ul. Konstantynów 1 I, 20-708 Lublin, e-mail: awolin@kul.pl
[2]Zakład Biochemii Drobnoustrojów,Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa,
[3]Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów,Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Celem pracy było wyznaczenie nowych wskaźników metagenomicznych świadczących o degradacji bioróżnorodności w glebach od wielu lat eksploatowanych rolniczo. Materiał badaczy stanowiło 31 gleb (rolniczo użytkowanych i nieużytków – jako kontroli). Bioróżnorodność określono z zastosowaniem techniki sekwencjonowania następnej generacji (NGS) w technologii IonTorrent™ (Ion PGM™, Life Technologies). Bakteryjne sekwencje grupowano w operacyjne jednostki taksonomiczne (OTU) na podstawie 99% podobieństwa. W badanych glebach zidentyfikowano 118 rodzin i 305 rodzajów bakterii. Spośród nich 10 rodzin zarekomendowano jako indykatory degradacji bioróżnorodności: *Sphingomonadaceae* > *Chitinophagaceae* > *Flavobacteriaceae* > *Oxalobacteraceae* > *Acetobacteraceae* > *Myxococcaceae* > *Comamonadaceae* > *Pseudomonadaceae* > *Burkholderiaceae* > *Rhodanobacteraceae*. Analizując zaś różnorodność bakterii glebowych na poziomie rodzaju wytypowano 8 rodzajów wrażliwych na rolnicze użytkowanie gleb: *Pelomonas* > *Ramlibacter* > *Flavobacterium* > *Rhizobacter* > *Steroidobacter* > *Cellvibrio* > *Halliangium* > *Pseudomonas*. Ich wrażliwość określono na podstawie istotnego spadku liczby OTU w glebach rolniczo użytkowanych w porównaniu do gleb kontrolnych (nieużytkowanych rolniczo).

Soil metagenomes (families and genera) as indicators of biodiversity degradation in soils from Lubelskie Region

The aim of the study was to determine new metagenomic indicators testifying about soil biodiversity degradation as an effect of long-term agricultural use. Thirty-one soil samples (agriculturally exploited soil and wastelands - serving as controls) were taken for the study. For determination of biodiversity, next generation sequencing of the 16S rRNA metagenomic amplicons were used with the Ion Torrent™ technology. Bacterial sequences were clustered into operational taxonomic units (OTUs) based on a 99% similarity threshold. In the studied soils, 118 families and 305 genera were identified. Among them, 10 families were recommended as indicators of biodiversity degradation: *Sphingomonadaceae* > *Chitinophagaceae* > *Flavobacteriaceae* > *Oxalobacteraceae* > *Acetobacteraceae* > *Myxococcaceae* > *Comamonadaceae* > *Pseudomonadaceae* > *Burkholderiaceae* > *Rhodanobacteraceae*. By analyzing the diversity of bacterial genera, we found 8 genera that were sensitive to agricultural practices: *Pelomonas* > *Ramlibacter* > *Flavobacterium* > *Rhizobacter* > *Steroidobacter* > *Cellvibrio* > *Halliangium* > *Pseudomonas*. Their sensitivity was confirmed by a significant decrease in the number of OTUs in the agricultural soils, in comparison to the wastelands, treated as controls.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/09/D/NZ9/02482.

Molekularna i fenotypowa analiza lekooporności szczepów Escherichia coli izolowanych z wód użytku ekologicznego „Staw przy Kaczeńcowej" w Nowej Hucie

Katarzyna Wolny-Koładka

Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Badania miały na celu określenie, czy w stawie występują lekooporne szczepy *E. coli*. Próbki wód pobierane były 4 razy w roku (wiosna, lato, jesień, zima) w 5 punktach na terenie zbiornika. Bakterie *E. coli* izolowano z wód „Stawu przy Kaczeńcowej" z użyciem filtracji membranowej i podłoża TBX agar. Przy pomocy metody dyfuzyjno-krążkowej określono wrażliwość szczepów *E. coli* na powszechnie stosowane antybiotyki. Wyizolowano 60 szczepów zidentyfikowanych jako *E. coli*, które najczęściej posiadały oporność na tikarcylinę i ampicylinę. Mimo, iż stwierdzono obecność szczepów wielolekoopornych, mechanizmu ESBL nie wykryto. Natomiast dzięki zastosowaniu techniki PCR wykryto obecność 3 genów lekooporności tj. *bla*TEM, *bla*OXA i *bla*SHV.

Molecular and phenotypic analysis of drug resistance of Escherichia coli strains isolated from ecological area waters of "Staw przy Kaczeńcowej" in Nowa Huta

This study was aimed to assess the occurrence of drug-resistant *E. coli* strains in pond waters. Water samples were collected 4 times per year (spring, summer, autumn, winter) at 5 points within the area of the reservoir. Using the membrane filtration and TBX agar *E. coli* strains were isolated from the water of "Staw przy Kaczeńcowej" in Nowa Huta. Disc diffusion method was used to determine the sensitivity of *E. coli* strains to commonly used antibiotics. In total, 60 strains identified as *E. coli* were isolated, which most commonly had resistance to ticarcillin and ampicillin. Although, multidrug resistant strains have been identified, ESBL mechanism has not been detected. However, using the PCR technique, the occurrence of 3 drug resistance genes were detected, i.e. *bla*TEM, *bla*OXA and *bla*SHV

Koagulazo-ujemne gronkowce izolowane z ośrodków jazdy konnej jako rezerwuar oporności na antybiotyki

Katarzyna Wolny-Koładka

Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Celem badań była identyfikacja gatunkowa, określenie profilu lekooporności i ocena występowania genów odpowiedzialnych za powstawanie metycylinooporności u koagulazo-ujemnych gronkowców izolowanych z ośrodków jazdy konnej. Gronkowce izolowano z powietrza, obornika oraz nozdrzy koni znajdujących się w trzech ośrodkach jazdy konnej. Oporność na antybiotyki określono przy pomocy metody dyfuzyjno-krążkowej oraz techniki PCR w celu wykrycia genów *mecA* warunkujących metycylinoooporność. Ogółem zgromadzono 375 szczepów, należących do 19 gatunków, wśród których dominował *S. vitulinus*. Stwierdzono najwyższą oporność na gentamycynę i tetracyklinę. Wśród zgromadzonych bakterii najczęściej występowała oporność na 1,2 lub 3 antybiotyki jednocześnie, maksymalnie na 6. Wykryto także izolaty wielolekooporne (MDR). Metycylinooporność za pomocą testu dyfuzyjno-krążkowego stwierdzono u 23 szczepów, natomiast gen *mecA* wykryto u 137 izolatów. Coagulase-negative staphylococci isolated from horse riding centers as a reservoir of drug resistant

Coagulase-negative staphylococci isolated from horse riding centers as a reservoir of drug resistant

The purpose of the study was to identify species, determine the drug resistance profile and evaluate the occurrence of genes responsible for the development of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci isolated from horse riding centers. Staphylococci were isolated from air, manure and nostrils of horses located in three horse riding centres. Resistance to antibiotics was determined by means of disc diffusion method and PCR technique to detect *mecA* genes responsible for methicillin resistance. In total, 375 strains were collected, belonging to 19 species, the dominant species was *S. vitulinus*. The highest resistance was found to gentamicin and tetracycline. Among the collected bacteria, most frequent was the resistance to 1,2 or 3 antibiotics at the same time, maximum of 6. Multidrug-resistant (MDR) strains were also detected. Methicillin resistance determined by disk diffusion assay was found in 23 strains, while the *mecA* gene was detected in 137 isolates.

Prezentacja International Society for Microbial Ecology (ISME)

Katarzyna Piwosz

Centre ALGATECH, Institute of Microbiology Czech Academy of Sciences
Novohradska 237 – Optaovicky Mlyn, 37901 Třeboň, Czech Republic
Department of Fisheries Oceanography and Marine Ecology
National Marine Fisheries Research Institute
Kołłątaja 1, 81-332 Gdynia, Poland

Międzynarodowe Towarzystwo Ekologii Mikroorganizmów (International Society for Microbial Ecology: ISME) jest stowarzyszeniem non-profit. Celem towarzystwa jest wpieranie naukowczyń i naukowców oraz inne osoby zajmujące się i zainteresowane tematyką ekologii mikroorganizmów poprzez organizowanie i finansowanie badań, działań edukacyjnych, spotkań i konferencji naukowych oraz innych platform wymiany informacji. Towarzystwo wydaje również prestiżowe wydawnictwo naukowe The ISME Journal (IF: 9.664, 3/153 w dziedzinie ekologii, 7/124 w dziedzinie mikrobiologii). Szczegóły i możliwość zostania członkinią lub członkiem na stronie internetowej: www.isme-microbes.org.

International Society for Microbial Ecology (ISME)

The International Society for Microbial Ecology (ISME) is a non-profit association in the field of Microbial Ecology. We connect, sponsor, provide platforms and information, organize events, and are proud owner of the ISME Journal (IF: 9.664, 3/153 in ecology, 7/124 in microbiology). Our goal is to serve microbial ecologists and the wider community by supporting research and education. Find out more at www.isme-microbes.org, and become a member.

BioMaxima S.A. jest notowanym na NewConnect polskim producentem podłoży mikrobiologicznych, a także szerokiej gamy odczynników oraz sprzętu do diagnostyki in vitro. Spółka jest również dystrybutorem produktów uznanych światowych firm diagnostycznych takich jak m.in. Nova Biomedical, Mitsubishi Chemical, Biolog. Spółka posiada Certyfikaty Systemu Zarządzania Jakością ISO 9001:2008 oraz ISO 13485:2003. Produkty Spółki są znakowane CE i spełniają wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79/WE. Dzięki szerokiej ofercie produktów jesteśmy znaczącym partnerem dla wielu klientów z rynku diagnostyki klinicznej, weterynaryjnej oraz przemysłowej zarówno w Polsce (gdzie zaopatrujemy ponad 1800 laboratoriów) jak i na rynkach międzynarodowych, gdzie obsługujemy ponad 60 dystrybutorów na czterech kontynentach.

Oferta BioMaxima obejmuje następujące główne grupy produktów:

- podłoża mikrobiologiczne
- testy do kontroli czystości mikrobiologicznej
- systemy biotechnologiczne
- systemy do oznaczania lekooporności mikroorganizmów (AST)
- odczynniki diagnostyczne do badania parametrów biochemicznych krwi i innych płynów ustrojowych wraz z analizatorami
- szybkie testy diagnostyczne do wykrywania chorób infekcyjnych, markerów nowotworowych, markerów zawału serca, środków uzależniających wraz z czytnikami
- systemy do analizy moczu
- odczynniki hematologiczne wraz z analizatorami
- analizatory jonoselektywne wraz z odczynnikami
- analizator immunologiczny markerów kardiologicznych wraz z odczynnikami
- glukometry do użytku profesjonalnego
- analizatory do badań gazometrycznych i parametrów krytycznych krwi

EURx Sp. z o. o. jest polską prywatną firmą biotechnologiczną o profilu produkcyjno-badawczym, z siedzibą w Gdańsku. Od ponad 20 lat uczestniczymy w rozwoju polskiego sektora biotechnologicznego. Dostarczamy wysokiej jakości odczynniki dla społeczności naukowej. Nasza grupa badawczo-rozwojowa wywodzi się z kręgów akademickich, większość ma za sobą długoletnie doświadczenie w branży biotechnologicznej. EURx rygorystycznie przestrzega kontroli jakości i standardów produkcji aby zapewnić wysoką jakość i powtarzalność produktów. Równocześnie stale udoskonalamy i rozwijamy naszą ofertę, wychodząc naprzeciw oczekiwaniom naszych klientów. Mamy bogate doświadczenie w fermentacji, klonowaniu i inżynierii białkowej, oczyszczaniu białek i DNA, a także w amplifikacji DNA.

EURx produkuje szeroką gamę zestawów do izolacji i oczyszczania kwasów nukleinowych i białek, a także polimerazy termostabilne, unikalne polimerazy ludzkie, odwrotne transkryptazy, odczynniki do qPCR, wzorce wielkości DNA i białek oraz różnego typu nukleazy, białka modyfikujące DNA, enzymy restrykcyjne i wiele innych odczynników niezbędnych w biologii molekularnej, jak agarozy, bufory, barwniki obciążające i surowicę płodową do hodowli.

Chcemy, aby nasze produkty pomagały Państwu realizować własne cele naukowe. Swoją misję realizujemy w oparciu o nasz główny obszar działalności jakim jest tworzenie i sprzedaż preparatów i odczynników biotechnologicznych. Prowadzimy intensywne badania z wykorzystaniem tradycyjnych, jak również najnowszych technologii, co pozwala nam wytwarzać najwyższej jakości produkty. Zadowolenie naszych Klientów oraz jakość naszych produktów to podstawa naszego działania.

Jesteśmy dumni, że przyczyniamy się do sukcesu wielu naszych Klientów.

A&A Biotechnology jest polską firmą biotechnologiczną, która opracowuje i wytwarza innowacyjne produkty dla branży life science. Została założona w 1993 roku przez obecnego dyrektora naczelnego dr Adama Burkiewicza. Firma posiada własne laboratoria badawcze i zakłady produkcyjne.

Oferta A&A Biotechnology obejmuje zestawy do izolacji DNA i RNA, PCR i odczynniki do odwrotnej transkrypcji, odczynniki do klonowania i transformacji oraz odczynniki i usługi do biologii molekularnej. Firma posiada również urządzenia umożliwiające produkcję dużych ilości enzymów stosowanych w biologii molekularnej.

Produkty i usługi A&A Biotechnology są wykorzystywane przez laboratoria naukowe i diagnostyczne na uniwersytetach i w instytutach badawczych, laboratoria weterynaryjne, w służbie zdrowia, laboratoriach analiz środowiskowych, laboratoriach kryminalistycznych i innych firmach z branży life science.

Ponadto, dysponując własnym działem badawczo-rozwojowym i produkcyjnym, jesteśmy w stanie dostosować nasze produkty i rozwiązania do indywidualnych potrzeb klienta

INTERMAG od 30 lat wspiera polskich rolników i ogrodników w uzyskiwaniu coraz wyższej efektywności w produkcji roślinnej oraz hodowli zwierząt. Firma zaliczana jest do największych producentów nawozów i biostymulatorów, a także produktów prozdrowotnych dla zwierząt w Europie. Rozwija działalność w ponad 30 krajach na całym świecie, a nawozy tutaj produkowane stosowane są obecnie na ponad 5 mln hektarów upraw.Naszą ambicją jest stać się zapleczem najnowocześniejszych rozwiązań dla rolników i pomóc im zwiększać plony zgodnie z naszym firmowym motto: „SKUTECZNOŚĆ DZIĘKI WIEDZY". Misją firmy jest dostarczanie innowacyjnych technologii, pozwalających produkować zdrową żywność w ramach zrównoważonego rolnictwa. W tym celu firma współpracuje z uznanymi instytucjami naukowo-badawczymi, a ponadto zbudowała własne zaplecze badawczo-doświadczalne, które pozwala na prowadzenie zaawansowanych badań i prac rozwojowych. Wprowadzenie na rynek nowych produktów zawsze poprzedzone jest rzetelnymi badaniami biologicznymi, które potwierdzają ich efektywność w praktyce rolniczej i ogrodniczej. INTERMAG konsekwentnie inwestuje w rozwój nowych technologii, czerpiąc inspirację z rozwiązań, które wymyśliła sama natura miliony lat temu. Celem firmy jest długoterminowy rozwój, dlatego tak ważna dla nas jest inwestycja w badania i rozwój produktów. Nowoczesne urządzenia i aparatura w laboratorium oraz zespół doświadczonych, wykształconych profesjonalistów, pełnych zaangażowania i pasji w poszukiwaniu i odkrywaniu nowych rozwiązań, przynoszą efekty w postaci innowacyjnych produktów wprowadzanych na rynek. Nieustannie wzrasta też potencjał produkcyjny firmy – rozbudowywana i modernizowana fabryka jest obecnie jedną z najnowocześniejszych w Europie wśród producentów nawozów dolistnych i biostymulatorów. Wartością nadrzędną firmy jest satysfakcja Klientów, a ich rosnące wymagania, opinie i sugestie są inspiracją do ciągłego udoskonalania oferty oraz wprowadzania kolejnych innowacyjnych rozwiązań, przyczyniających się do zwiększenia ilości i jakości plonów. Produkty INTERMAG charakteryzuje wysoka jakość, która jest osiągane dzięki między innymi stabilnością i gwarancją składu oraz zgodność z deklarowaną zawartością, wykorzystanie najnowszych technologii w produkcji, rygorystyczne przestrzeganie procedur produkcyjnych (produkcja oparta o System Zarządzania Jakością i Środowiskiem oraz Bezpieczeństwem Żywności ISO 9001 i 14001 oraz 22000:2006). Do produkcji używa się wyłącznie wysokiej jakości komponentów, które najpierw przechodzą procedurę kwalifikującą dostawców, zgodną z ISO 9001 i 14001 oraz 22000. INTERMAG jest liderem innowacyjności wśród europejskich firm branży agro, a preparaty tu powstające cechuje najwyższa skuteczność w uzyskiwaniu znacznych wzrostów i poprawy jakości plonów oraz poprawy zdrowotności zwierząt. Powyższe rezultaty potwierdzone są wynikami badań, doświadczeń i wdrożeń prowadzonych w kraju i za granicą oraz pozytywnymi opiniami użytkowników. Ostatnie kilka lat rozwoju firmy INTERMAG koncentruje się wokół zagadnień związanych z Integrowaną Produkcją Roślinną, a co za tym idzie ukierunkowaniu badań nad preparatami biodegradowalnymi i przyjaznymi dla środowiska naturalnego. Jedną z tych gałęzi jest opracowywanie preparatów opartych o mikroorganizmy, w których wykorzystywane są cechy funkcjonalne bakterii, grzybów, promieniowców i drożdży do stymulowania wzrostu, ochrony przed patogenami i łagodzenia skutków stresów biotycznych i abiotycznych roślin uprawnych.

Baćmaga M. 106
Banach A. 129
Banasiewicz J. 74, 84
Barabasz W. 14
Baum C. 28
Białas W. 23
Bilińska-Wielgus N. 76
Błaszczyk A. 32
Błaszczyk M. 50, 129
Bohacz J. 92, 93
Bomba A. 51, 54
Borowik A. 68, 69
Borsuk G. 61
Brzeziańska-Lasota E. 43
Bucha M. 50
Bucka-Kolendo J. 80, 81, 85
Bulskia K. 87
Burkowska-But A. 30
Carro L. 88
Cendrowska A. 87
Chernetskyy M. 99
Chmiel M. 87, 107
Chojnacka A. 50
Chrobak J. 91
Cłapa T. 72
Cybulska K. 52
Czaczyk K. 23
Czajka A. 113
Czyż E. A. 108, 109
Dabert M. 36, 72, 83, 86
Decewicz P. 22, 46, 70
Deja-Sikora E. 28, 30
Dekowska A. 81, 82, 85
Derkowska E. 24, 64
Detman A. 50
Domańska-Blicharz K. 53
Drab D. 91
Dubina M. 111
Dziewit Ł. 22, 46, 70, 71
Dziurzyński M. 22, 46, 70, 71
Felföldi T. 30
Filutowska Z. 83
Frąc M. 24, 56, 76, 96, 103, 114, 122, 123
Frączek K. 87, 107
Furtak K. 108, 109, 110
Gajda A. 108, 109
Gałązka A. 37, 89, 102, 103, 110, 116, 118, 121
Gawryjołek K. 110
Giza A. 51, 54
Głowska E. 83
Głuszek S. 24
Golec P. 70
Golińska P. 88
Gołębiewski M. 28, 32
Goodfellow M. 88
Goraj W. 75
Goryluk-Salmonowicz A. 84
Góralska K. 43
Górecki A. 46, 70, 71
Górniak D. 16, 70
Górski A. 121
Grabowska A. 25
Grubich J. 25, 65
Gryta A. 56, 76, 123
Grządziel J. 37, 89, 103, 110, 116, 118, 121, 124
Grzęda M. 61
Guiamet P. 33, 73
Gutarowska B. 33, 73
Hanaka A. 92, 93
Holm S. 71
Horn F. 71
Hryniewicz I. 91, 107
Hrynkiewicz K. 28, 32
Hunicz M. 118
Irzykowski W. 40
Iwan E. 51, 53, 54
Jach M. E. 90
Jamiołkowska A. 63
Janczarek M. 111, 112
Jankiewicz U. 25, 65
Janusz G. 58, 96, 98, 126, 127

Jaroszuk-Ściseł J.57, 58, 92, 93, 120, 126, 127
Jaworski A. 4, 18
Jensen J. B. 111, 112
Jędryczka M. 39, 40
Jędrysek M.O. 50
Kaczmarczyk A. 29
Kaczmarek J. 39
Kalembasa D. 123
Kalembasa S. 123
Kalita M. 99
Kalwasińska A. 25, 30, 65
Karczmarzyk K. 116
Karpińska A. 23
Kazimierczak W. 97
Kieraga I. 75
Klimek M. 115
Kłosok K. 116
Koczura R. 115, 117
Kokolus A. 52
Kolibska M. 94, 95
Koper P. 111, 112
Kopińska A. 58
Korniłłowicz-Kowalska T. 92, 93
Kosobucki P. 30
Kowalczyk A. 28
Kowalska B. 113
Kozdrój J. 48
Kozieł M. 111, 112
Krawiec A. 30
Król K. 119
Króliczak J. 42, 44
Kubaczyński A. 118
Kucharczyk H. 29
Kucharczyk M. 29
Kucharski J. 68, 106
Kukuczka J. 59
Kuźniar A. 116, 121, 129
Latunde-Dada A. O. 39
Lech T. 59
Lenart D. 57
Lenart-Boroń A. 91
Liberska J. 86
Liebner S. 71
Lipa P. 111, 112
Lis M. 97
Lisek A. 24, 31, 60, 64
Łaniewska-Trokenheim Ł. 61
Majewska M.57, 58, 92, 93, 119, 120, 126, 127
Makowska N. 47
Małek W. 41, 61, 99
Mamczarz M. 94
Marek-Kozaczuk M. 99, 120
Markiewicz M. 113
Marynowski L. 50
Marzec A. 38
Marzec-Schmidt K. 40
Mazur A. 19
Mądrzak C. 42, 44
Mercy L. 28
Mielecki D. 50
Mokracka J. 47, 115, 117
Narożna D. 42, 44, 72
Nowak A. 57, 58, 92, 93, 120, 126, 127
Nowakowska K. 128
Nowak-Ziatyk D. 7, 26
Olechnowicz J. 72
Olejnik M. 53
Oleńska E. 41
Onopiuk P. 121
Oraibi S. 52
Orłowska A. 38
Oszust K. 56, 114, 122, 123
Otlewska A. 33, 59, 73
Ozimek E. 57, 58, 92, 93, 127
Pachla A. 61
Palusińska-Szysz M. 94, 95, 99
Panek J. 76
Patkowska E. 62, 63
Pawlak K. 121
Pawlik A. 58, 96, 126, 127
Pertile G. 56
Pikulicka A. 14, 77
Piwosz K. 132
Piwowarczyk C. 50

Polak M. 53
Poszytek K. 70
Przybył M. 24
Ptaszyńska A.A. 61
Pudełko K. 42, 44, 72
Pytlak A. 118, 121
Rachwał K. 112
Rajkowska K. 33, 73
Ramzi N. 40
Romanowska K. 83
Sajnaga E. 90, 97
Salwa K. 121
Sas Paszt L. 24, 31, 60, 64
Sell J. 29
Semkowska A. 115
Siczek A. 123
Siebielec G. 124, 125
Siebielec S. 124, 125
Sikora A. 4, 20, 50, 55
Sikora M. 32
Simoneit B.R.T. 50
Skarżyńska M. 54
Skowronek M. 97
Słodkowicz-Kowalska A. 36
Słomka A. 57, 93
Smolińska U. 113
Smreczak M. 38
Sokołowska B. 80, 81, 82, 85
Soto D. 33
Stefanowicz A. 114
Stępkowski T. 74, 84
Stępniewska Z. 75, 116, 118, 121, 129
Sujkowska-Rybkowska M. 74
Sumorok B. 24, 64
Swiontek Brzezinska M. 25, 30, 65
Szabó A. 30
Szafranek-Nakonieczna A. 118, 121
Szychowska K. 23
Szymańska S. 32
Świderska-Burek U. 98
Świecimska M. 88
Thanoon A.H. 63
Thijs S. 41
Trębas P. 38
Trzciński P. 24, 31, 60, 64
Trzebny A. 36, 86
Trzpil A. 75
Tyburski J. 28, 32
Tyśkiewicz R. 57, 58, 92, 126, 127
Vangronsveld J. 41
Wachol K. 84
Wagner D. 71
Wagner G. 29
Walczak M. 30
Walter T. 55
Wasyl D. 51, 54
Wdowiak S. 95
Wdowiak-Wróbel S. 99, 120
Weszczak K. 24
Wicha M. 61
Wierzchowski P. 25, 65
Wilk R. 23
Winiarski R. 100, 101
Winkel M. 71
Wita A. 23
Wolinowska R. 128
Wolińska A. 116, 129
Wolny-Koładka K. 130, 131
Wołczańska A. 94, 95
Woźniak M. 102, 103
Wypij M. 88
Wyszkowska J. 68, 106
Zielenkiewicz U. 55, 129
Zielińska S. 29