

Kraków, 20-22 września 2023

Mikrobiologia wody – czy poświęcamy jej wystarczającą uwagę?

XII OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA HYDROMIKROBIOLOGICZNA

HYDROMICRO  **2023**

KRAKÓW 20-22 WRZEŚNIA 2023

KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW

Organizatorzy:

Uniwersytet Jagielloński

Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN

Instytut Oceanologii PAN

Komitet Naukowy

Przewodniczący:

dr hab. **Dariusz Dziga**, prof. UJ, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Członkowie:

dr hab. n. med., prof. NIL **Anna Baraniak**, Narodowy Instytut Leków, Warszawa

dr hab. **Dorota Górniak**, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

dr **Ewa Kotlarska**, Instytut Oceanologii PAN w Sopocie

prof. dr hab. inż. **Joanna Surmacz-Górska**, Politechnika Śląska

prof. dr hab. **Lucyna Śliwa**, Instytut Botaniki PAN, Kraków

dr **Anna Toruńska-Sitarz**, Uniwersytet Gdański

dr hab. prof. PŚ **Aleksandra Ziemińska-Buczyńska**, Politechnika Śląska

Komitet Organizacyjny

Przewodniczący:

dr **Ariel Kamiński**, WBBiB, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Członkowie:

dr **Michał Adamski**, Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN w Krakowie

mgr **Urszula Czaja-Prokop**, WBBiB, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

dr hab. **Edyta Fiałkowska**, INOŚ, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

mgr **Barbara Klimczak**, WBBiB, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

dr **Ewa Kotlarska**, Instytut Oceanologii PAN w Sopocie

dr **Ewa Latkowska**, WBBiB, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

mgr **Bartosz Lelito**, WBBiB, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

dr hab. **Agnieszka Pajdak-Stós**, INOŚ, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

mgr **Saravana Selvaraj**, WBBiB, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Wolontariusze:

Moazam Ali

Ade Fajrian

Organizatorzy

Uniwersytet Jagielloński



Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN



Instytut Oceanologii PAN



**Instytut Oceanologii
Polskiej Akademii Nauk**

Patronat Honorowy

Prof. dr hab. Jacek Popiel

Rektor Uniwersytetu Jagiellońskiego

Prof. dr hab. Lucyna Śliwa

Dyrektor Instytutu Botaniki im. W. Szafera PAN w Krakowie

Prof. dr hab. Jan Marcin Węsławski

Dyrektor Instytutu Oceanologii PAN w Sopocie

Sponsorzy

Złoty Sponsor



WODOCIĄGI
Miasta Krakowa



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Srebrny Sponsor

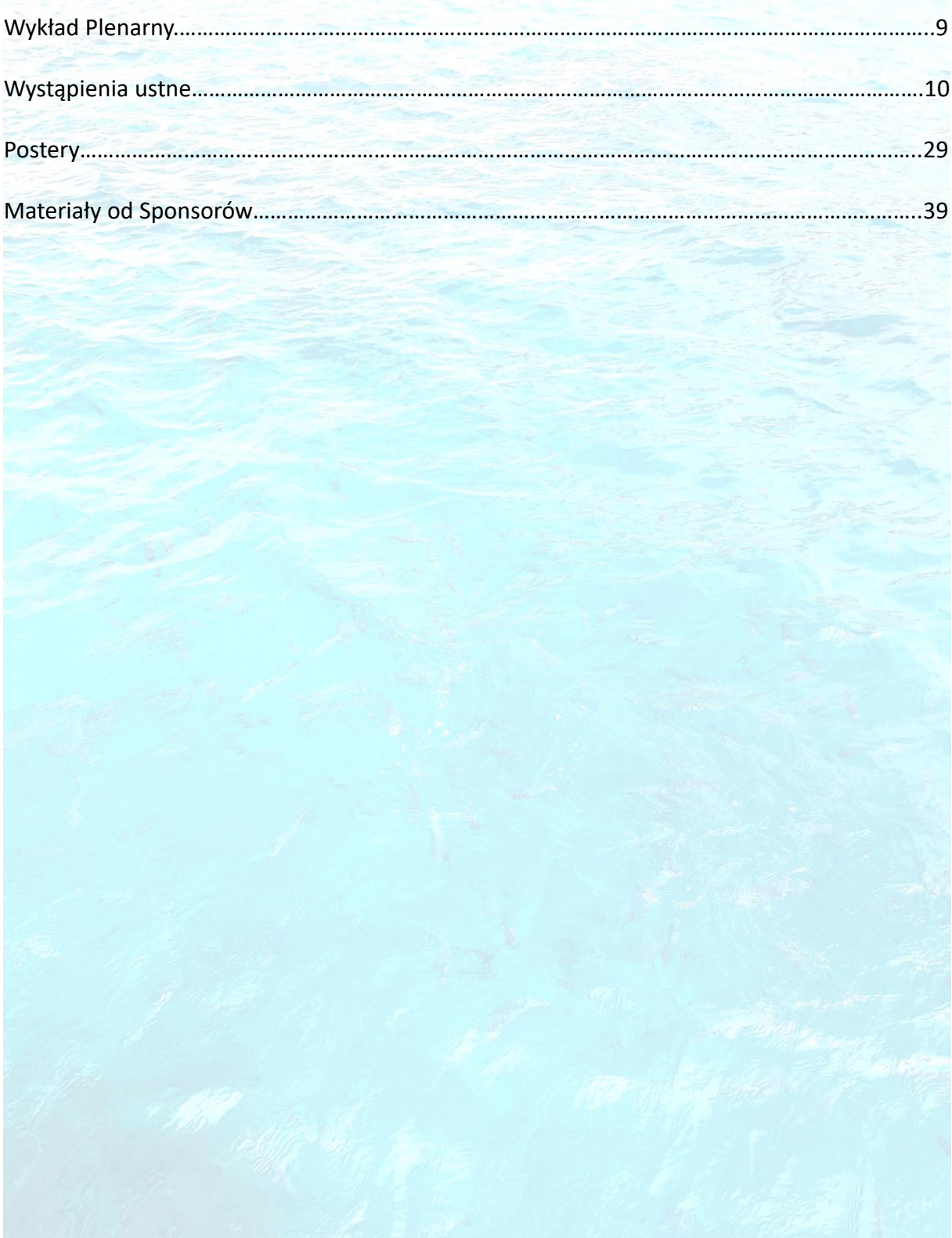


TIGRET

LKB Biotech

Spis treści

Szczegółowy plan konferencji.....	8
Wykład Plenarny.....	9
Wystąpienia ustne.....	10
Postery.....	29
Materiały od Sponsorów.....	39



PLAN KONFERENCJI

20 września

- 13:00 - 14:30 Rejestracja uczestników
- 14:30 - 15:15 Spyros Gkelis (wystąpienie ustne): From collecting the sample to mining the genome: the adventure of biodiscovery in cyanobacteria
- 15:15 - 16:30 **Sesja I Monitoring środowiska wodnego**
Prowadzący sesję: dr hab. Dariusz Dziuga

- Agata Błaszczak (w. ustne): Toksyczne metabolity cyjanobakterii i antybiotykooporne bakterie w bioaerozolach morskich w rejonie Zatoki Gdańskiej
- Anetta Ameryk (w. ustne): Zmiany Bakterioplanktonu w Zatoce Puckiej
- Aleksandra Burkowska-But (w. ustne): Tętnie solankowe - otwarte inhalatoria, czy emiterzy patogenów?
- Michał Adamski (w. ustne): Czy glebowe mikroorganizmy mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia człowieka? Pierwsze doniesienie o produkcji anatoksyny-a przez boliwijskie sinice lądowe
- Michał Grabski (w. ustne, prezentuje Ewa Kotlarska): Transformacje azotu w strefie minimum tlenowego: potencjał metagenomiczny
- Klaudia Kwiatkowska (poster): Oddziaływanie glifosatu na drobnoustroje osadu czynnego

16:30 - 17:00 Przerwa kawowa ☕

20:00 - 22:00 Uroczysta kolacja na Barce ☕

21 września

- 8:30 - 9:00 Rejestracja uczestników
- 9:00 - 11:00 **Sesja II Mikroorganizmy patogenne i lekooporne w środowisku i instalacjach technicznych ochrony środowiska**
Prowadzący sesję: dr Michał Adamski, dr hab. n. med., prof. NIL Anna Baraniak

- Tadeusz Bochnia (w. ustne): Hydromikrobiologiczne bezpieczeństwo wody w wodociągach miasta Krakowa
- Bartosz Kiersztyn (w. ustne): Wpływ antropopresji na sezonowe zmiany składu taksonomicznego mikroorganizmów w jeziorach z domeny *Bacteria* i występowanie potencjalnych patogenów z rodziny *Legionella* i *Aeromonas*
- Ewa Kotlarska (w. ustne): Analiza genomu *Aeromonas media* z integronem klasy 3
- Izabela Waśko (w. ustne): Dominacja pandemicznego klonu ST131 wśród wielolekoopornych szczepów *Escherichia coli* izolowanych ze ścieków w czasie pandemii COVID-19
- Karolina Grabowska-Grucza (poster): Zależności pomiędzy występowaniem bakterii z rodzaju *Legionella* i *Aeromonas*, a społecznością mikroorganizmów zasiedlających wody systemu wielkich jezior mazurskich w gradiencie eutrofizacji
- Ryszard Koczura (poster): Potencjalnie chorobotwórcze bakterie w wodzie i piasku kąpielisk w Kołobrzegu
- Łukasz Kubera (poster): Lekooporność bakterii fekalnych w środowisku wodnym przeznaczonym do celów rekreacyjnych: podejście fenotypowe i molekularne
- Joanna Mokracka (poster): Geny oporności na kolistynę u szczepów wyizolowanych z Centralnej Oczyszczalni Ścieków w Koziegłowach

11:00 - 11:30 Przerwa kawowa ☕

- 11:30 - 14:00 **Sesja III Badania Interakcji w środowiskach wodnych**
Prowadząca sesję: dr Ewa Kotlarska

- Dariusz Dziuga (w. ustne): Cyjanobakterie w wodach słodkich – adaptacja, interakcja, dominacja
- Ewa Latkowska (w. ustne): Fizjologiczne i biochemiczne mechanizmy adaptacji szczepów *Raphidiopsis raciborskii* pochodzących z różnych rejonów geograficznych do stresu chill/light
- Adam Antosiak (w. ustne): Cyjanofagi modulują metabolizm gospodarza prowadząc do przewagi procesów katabolicznych nad anabolicznymi
- Barbara Klimczak (w. ustne): Różnorodność oddziaływań pomiędzy cyjanofagami i cyjanobakteriami
- Bartosz Lelito (w. ustne): Badanie wpływu współnodowli pięciu nowopoznaczonych gatunków sinic na roślinę wodną *Lemna trisulca*
- Sylwia Lew (w. ustne): Środowiskowa kontrola metanogenów i metanotrofów w zbiornikach torfowiskowych

14:00 - 15:00 Przerwa obiadowa ☕

15:30 - 17:00 Zwiedzanie Centrum Edukacji Przyrodniczej

22 września

8:30 - 9:00 Rejestracja uczestników

9:00 - 9:30 Śniadanie ☕

- 9:30 - 11:30 **Sesja IV Zastosowanie mikroorganizmów wodnych w ochronie środowiska i biotechnologii**
Prowadząca sesję: dr Edyta Fiałkowska

- Anna Toruńska-Sitarz (w. ustne): Cyjanobakterie bałtyckie: w poszukiwaniu alternatywy dla antybiotyków
- Agnieszka Pajdak-Stós (w. ustne): Wrotki *Lecane inermis* jako obiecujące narzędzie do usuwania mikroplastików z wody
- Janusz Fyda (w. ustne): Wpływ cząstek mikroplastiku na żywotność wybranych orzęsków
- Aleksandra Ziemińska-Buczyńska (w. ustne): Charakterystyka i zmienność zbiorowiska mikroorganizmów w fermentacji metanowej
- Beata Mądrecka-Witkowska (poster): Mikrobiom biologicznie aktywnych filtrów węglowych stosowanych do oczyszczania wody przeznaczonej do spożycia
- Saravana Selvaraj (poster): Application and comparison of various composites coated with TiO₂ – does it have an impact on Cyanotoxins and Cyanobacterial Blooms?
- Andrzej Rybak (poster): Weryfikacja indykacyjnego potencjału *Hildenbrandii* rzecznej

11:30 - 12:30 Zakończenie konferencji i słony poczęstunek ☕

Wykład plenarny

FROM COLLECTING THE SAMPLE TO MINING THE GENOME: THE ADVENTURE OF BIODISCOVERY IN CYANOBACTERIA

Spyros Gkelis

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR 541-24
Thessaloniki, Greece*

Cyanobacteria are pioneer organisms and the most important primary producers on our planet. The evolution of oxygenic photosynthesis in Cyanobacteria changed the Earth's early environment, paving the way for the evolution of complex life. In turn, their autotrophic lifestyle enabled Cyanobacteria to thrive in various habitats, ranging from terrestrial to aquatic ecosystems, freshwaters to brackish waters, and hot springs to cold Arctic environments. Cyanobacteria, known to produce toxins, often produce secondary metabolites, in response to biotic or abiotic stress in the surrounding environment, providing protection and aiding in survival over other species. Given their ability to survive under harsh and extreme conditions, we hypothesize that cyanobacteria may produce a wide variety of compounds in specific niches. The successful adaptation to these harsh environments is largely due to their morphological and functional versatility, leading to a remarkable biodiversity; a large portion of this diversity is still unknown, with new species, genera and even families discovered every year. It is a common perception that chances for the discovery of taxonomic and chemical novelty increase by moving towards rarely screened organisms, such as underexplored microorganisms occupying extreme habitats or specific ecological niches. In this presentation I will discuss on the exploration of the diversity of cyanobacteria in those habitats, their molecular, morphological, and ecological characterization of strains, and some novel insights on the discovery of novel metabolic potential based on genomics.



WYSTĄPIENIA USTNE

TOKSYCZNE METABOLITY CYJANOBAKTERII I ANTYBIOTYKOOPORNE BAKTERIE W BIOAEROLACH MORSKICH W REJONIE ZATOKI GDAŃSKIEJ

A. Błaszczyk¹, A. Toruńska-Sitarz¹, E. Kotlarska², J. Kobos¹, A. Lewandowska³, H. Mazur-Marzec¹

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii, Katedra Biologii Morza i Biotechnologii, Pracownia Biotechnologii Morskiej, al. J. Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia, Polska

²Instytut Oceanologii PAN, Zakład Genetyki i Biotechnologii Morskiej, Powstańców Warszawy 55, 81-712 Sopot, Polska

³Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii, Katedra Oceanografii Chemicznej i Geologii Morza, Pracownia Biogeochemicznego Obiegu Pierwiastków, al. J. Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia, Polska

Autor korespondencyjny: agata.blaszczyk@ug.edu.pl

Bioaerozole nadmorskie są przedmiotem badań prowadzonych przez wiele ośrodków na świecie. W Polsce, wiedza o bioaerolach i ich konsekwencjach zdrowotnych, poza kilkoma doniesieniami, wciąż jest znikoma. Niniejsze badania miały na celu identyfikację oraz określenie zawartości toksyn sinicowych oraz lekoopornych bakterii w aerolach nadmorskich w rejonie Zatoki Gdańskiej. Próbkę aeroli pobrano podczas letnich zakwitów cyjanobakterii, wykorzystując mikrobiologiczny impaktor kaskadowy, który umożliwia frakcjonowanie próbek pod względem wielkości cząstek aeroli (\varnothing 0,65-10 μ m). Do identyfikacji i oznaczeń ilościowych toksycznych metabolitów w próbkach aeroli i wody zastosowano metody chemiczne (LC-MS/MS) i molekularne (PCR). Równoległe do procesu pobierania bioaeroli z zastosowaniem impaktora mikrobiologicznego, próbki powietrza zbierano metodą sedymentacyjną, na podłożach bakteryjnych LA i ZoBell. Z uzyskanych kolonii wyizolowano DNA genomowe, a następnie badano pod kątem występowania genów oporności na antybiotyki. Przeprowadzono także analizy jakościowe i ilościowe próbek fitoplanktonu morskiego. Na podstawie analiz LC-MS/MS wykazano obecność hepatotoksyn – nodularyny i mikrocytyn w próbkach powietrza nadmorskiego. Toksyny zidentyfikowano we wszystkich badanych frakcjach bioaeroli. Z kolei, analizy molekularne wykazały śladowe ilości eDNA (~10-20 ng/ μ l), jednak w reakcji PCR nie wykryto genów z operonów kodujących mikrocytyny/nodularyny (*mcyE/ndaF*). W badanym materiale stwierdzono obecność genów oporności na tetracyklinę (*tetA* i *tetB*) oraz geny kodujące β -laktamazy (geny *bla_{TEM}* i *bla_{SHV}*). Głównymi komponentami zakwitu były sinice z rodzajów: *Nodularia spumigena*, *Dolichospermum* sp. i *Aphanizomenon flosaquae*. Uzyskane wyniki wskazują, że bioaerozole nadmorskie z rejonu Zatoki Gdańskiej zawierają i jednocześnie transportują hepatotoksyny sinicowe i antybiotykooporne bakterie, co stwarza potencjalne zagrożenie dla zdrowia osób przebywających na plaży w okresach intensywnych zakwitów sinic.

ZMIANY BAKTERIOPLANKTONU W ZATOCE PUCKIEJ

A. Ameryk¹, M. Zalewski¹, M. Białowąs¹

Morski Instytut Rybacki – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Oceanografii Rybackiej i Ekologii Morza, ul. Kollątaja 1, Gdynia, Polska

Autor korespondencyjny: aameryk@mir.gdynia.pl

Zatoka Pucka to osłonięty Półwyspem Helskim zachodni rejon Zatoki Gdańskiej. Składa się z dwóch części oddzielonych od siebie pasmem płycizn: płytszej wewnętrznej i głębszej zewnętrznej. Ze względu na swoje położenie obciążona jest dużą antropopresją. Próby na udział procentowy wybranych grup bakterii pobrano na trzech stacjach położonych w obu częściach Zatoki Puckiej w comiesięcznych rejsach od stycznia do grudnia 2020 roku. Stacja JR położona w wewnętrznej części zatoki była zlokalizowana w okolicy ujścia rzeki Redy, KOL12 w zewnętrznej części zatoki w pobliżu kolektora ściekowego oczyszczalni Dębogórze, a S3 w otwartej zewnętrznej części zatoki z najmniejszym wpływem antropogenicznym. Wykorzystując znakowanie sondami molekularnymi (metoda CARD-FISH) oznaczono trzy zróżnicowane środowiskowo grupy SAR11 (słodkowodną SAR11-IIIb (LD12), oceaniczną SAR11-I/II i bałtycką SAR11-IIIa) jak również Verrucomicrobia i Spartobacterie. W analizowanych wynikach wyróżniała się stacja KOL12. W rejonie tym odnotowano wyższy udział procentowy Verrucomicrobia i oceanicznej grupy bakterii SAR11-I/II. Udział procentowy słodkowodnych SAR11-IIIb i Spartobacterii utrzymywał się na podobnym poziomie jak na pozostałych dwóch stacjach, jednak dynamika zmienności sezonowej była odmienna. W rejonie tym odnotowano zależność liczebności oceanicznych SAR11-I/II od temperatury. Może to wskazywać, że w przeciwieństwie do innych stacji ta grupa była tam aktywna. Wyniki produkcji bakteryjnej i ogólnej liczebności bakterii wskazywały na wysoką aktywność naturalnej flory Zatoki Puckiej w rejonie kolektora ściekowego. Pozostałe dwie stacje (S3 i JR) położone w zewnętrznej i w wewnętrznej części zatoki, charakteryzowały się podobnym przebiegiem zmienności sezonowej badanych grup bakterii. W rejonie ujścia rzeki Redy (stacja JR) wysokie liczebności bakterii przy ich średnich aktywnościach sugerowały słodkowodne pochodzenie bakterioplanktonu.

TEŻNIE SOLANKOWE – OTWARTE INHALATORIA CZY EMITERY PATOGENÓW?

A. Burkowska-But^{1,2}, M. Wróbel¹

¹ *Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń, Polska*

² *Stowarzyszenie Polskie Teżnie, ul. Kościuszki 10, 87-720 Ciechocinek, Polska*

Autor korespondencyjny: wodkow@umk.pl

W ostatnich latach, nie tylko w uzdrowiskach (Busko Zdrój, Wieliczka, Rabka, Gołdap), ale również we wielu innych miastach (np. Warszawa, Chorzów, Gliwice) zbudowano teźnie solankowe. Pełnią one przede wszystkim rolę atrakcji turystycznych, ale także otwartych inhalatoriów emitujących aerozol solankowy. Solanki krążące w obiegu teźni mają znaczący wpływ na mikrobiologiczną jakość powietrza w otoczeniu tych otwartych inhalatoriów [1]. Mogą zarówno mechanicznie oczyszczać powietrze i działać biobójczo ze względu na zawarty w solance chlorek sodu, jak i stanowić dodatkowe źródło zanieczyszczeń, jeśli do atmosfery są emitowane drobnoustroje obecne w solance oraz wypłukiwane z powierzchni gałązek tarniny. Z Obwieszczenia Ministra Zdrowia z dnia 29 września 2020 r. wynika wyłącznie konieczność wykorzystywania na teźniach w uzdrowiskach wody uznanej za leczniczą [2], o potwierdzonym składzie chemicznym i przebadanej mikrobiologicznie (przez producenta, przed wprowadzeniem na teźnię). Jednak w trakcie eksploatacji teźni może dochodzić do zanieczyszczania solanki pyłami i mikroorganizmami wychwytywanymi z powietrza, a także namnażania obecnych w solance drobnoustrojów. Takie wtórne zanieczyszczenia nie muszą być (i najczęściej nie są) monitorowane, mimo iż wprowadzone do powietrza w postaci aerozolu solankowego, mogą mieć wpływ na zdrowie osób przebywających wokół teźni. W prezentowanych badaniach materiał stanowiły solanki teźniowe z Ciechocinka i Buska Zdroju. Sprawdzono zmiany składu i liczebności mikroorganizmów w trakcie eksploatacji teźni. Z przeprowadzonych badań wynika konieczność monitoringu mikrobiologicznego solanek w trakcie eksploatacji teźni. Należy również zapobiegać dostawaniu się zanieczyszczeń (szczególnie organicznych) do solanki, ponieważ znacząco zwiększa to przeżywalność bakterii potencjalnie patogenych w środowisku teźni.

Bibliografia:

[1] Burkowska-But A. (2016) Teźnie jako czynnik kształtujący mikrobiologiczną jakość powietrza w uzdrowisku. Wydawnictwo Naukowe UMK, Toruń

[2] Dz.U. 2020 poz. 1838 Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 29 września 2020 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie określenia wymagań, jakim powinny odpowiadać zakłady lecznictwa uzdrowiskowego

CZY GLEBOWE MIKROORGANIZMY MOGĄ STANOWIĆ ZAGROŻENIE DLA ZDROWIA CZŁOWIEKA? PIERWSZE DONIESIENIE O PRODUKCJI ANATOKSYNY-A PRZEZ BOLIWIJSKIE SINICE LĄDOWE

M. Adamski¹, A. Flakus¹, A. Kaminski², J. Piątek¹, M. Solarska¹, P. Żmudzki³

¹*Instytut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk, ul. Lubicz 46, 31-512 Kraków, Polska*

²*Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, ul. Gronostajowa 7, 30-384 Kraków, Polska*

³*Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Wydział Farmaceutyczny, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska*

Autor korespondencyjny: m.adamski@botany.pl

Toksyczne zakwity sinicowe (ang. cyanobacterial harmful algal blooms, CyanoHABs) w ostatnich latach pojawiają się z dużą częstością na całym świecie. Nadmierna ilość sinic w zbiornikach, stanowi poważny problem ekologiczny z uwagi na zmianę parametrów fizykochemicznych wody oraz zaburzenie relacji pomiędzy bytującymi w niej organizmami. Sinice znane są z produkcji toksycznych metabolitów wtórnych (tzw. toksyny sinicowe/cyanotoksyny), które wprowadzane są do wody najczęściej w trakcie lizy komórek. Wiedza na temat zakwitów sinicowych jest relatywnie szeroka, znane są czynniki promujące te zjawiska, metody monitorowania rozwoju sinic, a także potencjalne sposoby zapobiegania zakwitom. Podobnie, dostępnych jest wiele informacji referujących wpływ toksyn sinicowych na różne organizmy, w tym komórki człowieka. Niestety do tej pory niewiele jest danych na temat możliwości syntezy toksycznych metabolitów przez sinice zasiedlające nietypowe stanowiska, takie jak pustynie, arktyczne maty czy zbiorowiska glebowe. Ponadto w niektórych rejonach świata – np. w Ameryce Południowej, wiedza dotycząca zakwitów sinicowych i cyanotoksyn ograniczona jest tylko do kilku krajów (np. Argentyny, Chile czy Brazylii). Głównym celem niniejszych badań była weryfikacja możliwości syntezy najczęściej oznaczanych cyanotoksyn – neurotoksycznej anatoksyny-a, cytotoksycznej cylindrospermopsyny oraz hepatotoksycznej mikrocystyny-LR przez sinice zasiedlające stanowiska glebowe zlokalizowane w pobliżu boliwijskiego parku narodowego Reserva Ecológica de Apa Apa (La Paz, prowincja Sud Yungas; 16°20'39.70"S, 67°29'54.32"W). Wykorzystano ultrasprawną chromatografię cieczową w połączeniu ze spektrometrią masową (UHPLC-MS). Uzyskane wyniki potwierdziły obecność anatoksyny-a, której stężenie w przeliczeniu na suchą masę wynosiło $1.69 \pm 1.42 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Jest to pierwsze doniesienie dotyczące występowania anatoksyny-a w Boliwii oraz pierwsze wskazujące na możliwość syntezy tego związku przez sinice lądowe.

TRANSFORMACJE AZOTU W STREFIE MINIMUM TLENOWEGO: POTENCJAŁ METAGENOMICZNY

M. Grabski^{1,2}, E. Kotlarska³, A. Łuczkiwicz⁴, G. Węgrzyn¹, B. Szymczycha²

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biologii Molekularnej, Wita Stwosza 59, Gdańsk, Polska

²Instytut Oceanologii Polskiej Akademii Nauk, Zakład Chemii i Biochemii Morza, Powstańców Warszawy 55, Sopot, Polska

³Instytut Oceanologii Polskiej Akademii Nauk, Zakład Genetyki i Biotechnologii Morskiej, Powstańców Warszawy 55, Sopot, Polska

⁴Politechnika Gdańska, Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska, Narutowicza 11/12, Gdańsk, Polska

Autor korespondencyjny: mgrabski@iopan.gda.pl

Strefy minimum tlenowego (OMZ, z ang. oxygen minimum zone) to miejsca, w których drobnoustroje wykorzystują alternatywne akceptory elektronów w procesach oddychania. Reakcje przekształcania azotu przeprowadzane przez te zbiorowiska mikroorganizmów zmieniają np. stopień utlenienia związków azotu, zapewniając jego biodostępność oraz przyczyniając się do emisji form gazowych do atmosfery, w tym gazu cieplarnianego, jakim jest podtlenek azotu (N₂O). Analiza porównawcza genów zaangażowanych w cykl azotu w Głębi Bornholmskiej, Głębi Gdańskiej i Głębi Gotlandzkiej (Bałtyk Właściwy) wykazała, iż strefy te były zdominowane przez Thaumarchaeota (rodzina *Nitrosopumilaceae*) i Proteobacteria (rodzina *Thioglobaceae*). Potencjalne genomy wyodrębnione z metagenomów skorelowały natomiast aktywność metaboliczną tych mikroorganizmów odpowiednio z nityfikacją i z denityfikacją. Ponadto przeprowadzone badania potwierdziły możliwość uwalniania N₂O w strefach deficytu tlenowego, ze względu na większą liczebność genów NOR (kodujących reduktazy tlenu azotu) w porównaniu do genów NOS (kodujących reduktazy podtlenu azotu). Podczas analiz zastosowano również binning, który łączy i identyfikuje kontigi należące do tej samej populacji. Podejście to pozwoliło na wyjaśnienie wysokiej liczebności *Nitrosopumilaceae* w OMZ, poprzez skorelowanie ich szlaku utleniania amoniaku z potencjalną aktywnością w procesie dysmutacji NO do O₂ i N₂. Uzyskane wyniki wskazują zatem, iż w strefach deficytu tlenowego mikroorganizmy wykazują potencjał do efektywnego powadzenia procesu nityfikacji w połączeniu z dysmutacją, a ten szlak metaboliczny obok denityfikacji może być istotnym procesem emisji azotu do atmosfery. W związku z powyższym zastosowane podejście badawcze stanowi istotną wskazówkę do dalszych analiz transkryptomicznych.

Podziękowania

Badania były finansowane z Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu nr. 2019/34/E/ST10/00217 „IDEAL: Zbadanie sezonowej zmienności denityfikacji i anammox w kolumnie wody morskiej i osadzie Morza Bałtyckiego”.

HYDROMIKROBIOLOGICZNE BEZPIECZEŃSTWO WODY W WODOCIĄGACH MIASTA KRAKOWA

T. Bochnia

Wodociągi Miasta Krakowa

Prelekcja Sponsora.



WODOCIĄGI
Miasta Krakowa

WPLYW ANTROPOPRESJI NA SEZONOWE ZMIANY SKŁADU TAKSONOMICZNEGO MIKROORGANIZMÓW JEZIOROWYCH Z DOMENY *BACTERIA* I WYSTĘPOWANIE POTENCJALNYCH PATOGENÓW Z RODZINY *LEGIONELLA* I *AEROMONAS*.

B. Kiersztyn¹, W. Siuda¹, K. Grabowska-Grucza¹

¹*Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Instytut Biologii Funkcjonalnej i Ekologii, ul Żwirki i Wigury 101, 02-089 Warszawa*

Autor korespondencyjny: b.kiersztyn@uw.edu.pl

Jednym z efektów antropopresji jest przyspieszona eutrofizacja wód jeziornych, która prowadzić może do znaczących zmian w funkcjonowaniu sieci troficznych. W niniejszej prezentacji przedstawiamy w jaki sposób antropogeniczna eutrofizacja wpływa na sezonowe zmiany w strukturze taksonomicznej bakterioplanktonu jeziorowego i czy zmiany te mogą wiązać się ze zmianami frekwencji występowania oportunistycznych patogenów z rodzaju *Legionella* i *Aeromonas*. Obiektem badań były jeziora należące do systemu Wielkich Jezior Mazurskich, które stanowią unikalny w skali europejskiej system połączonych jezior polodowcowych z wyraźnym gradientem eutrofizacji utworzony na skutek działalności człowieka. Stwierdziliśmy, że struktura taksonomiczna bakterii w jeziorach eutroficznych w sposób istotny statystycznie różniła się od struktury taksonomicznej obserwowanej w jeziorach mezo-eutroficznych, poddanych mniejszej antropopresji. W jeziorach eutroficznych skład taksonomiczny mikroorganizmów z domeny *Bacteria* charakteryzował się znaczną dynamiką i podlegał znaczącym zmianom sezonowym, których nie stwierdzono w jeziorach mezo-eutroficznych. Analizując frekwencję występowania bakterii z rodzaju *Legionella* i *Aeromonas* stwierdziliśmy, że istnieje specyficzny skład taksonomiczny bakterii związany z występowaniem *Legionella* spp. Najwyższe dodatnie istotne statystycznie korelacje z występowaniem *Legionella* spp. stwierdzono dla rodzin *Pirellulaceae*, *Mycobacteriaceae* i *Gemmataceae*. Najwyższe ujemne korelacje stwierdzono dla rodzin *Sporichthyaceae*, *Flavobacteriaceae*, niehodowanych rodzin z klasy *Verrucomicrobia* i *Chitinophagaceae*. Reasumując antropogeniczna eutrofizacja wód jeziornych przyczynia się do znaczących zmian w dynamice funkcjonowania zespołów mikroorganizmów jeziorowych, czego konsekwencją są zmiany w funkcjonowaniu całego ekosystemu jeziorowego. Ponadto zmiany składu taksonomicznego bakterioplanktonu mogą promować zwiększenie udziału mikroorganizmów potencjalnie patogennych zarówno za sprawą preferencji określonych warunków fizykochemicznych wody jak i interakcji z poszczególnymi grupami taksonomicznymi współwystępujących mikroorganizmów.

ANALIZA GENOMU *AEROMONAS MEDIA* Z INTEGRONEM KLASY 3

E. Kotlarska¹, T.J. Sańko², I. Waśko³, A. Kozińska³, A. Baraniak³, A. Łucziewicz⁴

¹*Instytut Oceanologii Polskiej Akademii Nauk, Zakład Genetyki i Biotechnologii Morskiej, Powstańców Warszawy 55, Sopot, Polska*

²*Stellenbosch University, Centre for Epidemiologic Response and Innovation at School of Data Sciences and Computational Thinking & Bioinformatics at Division of Molecular Biology and Human Genetics, Francie van Zijl Drive, Kapsztad, RPA*

³*Narodowy Instytut Leków, Zakład Badań Biomedycznych, Chełmska 30/34, Warszawa, Polska*

⁴*Politechnika Gdańska, Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska, Narutowicza 11/12, Gdańsk, Polska*

Autor korespondencyjny: ekotlarska@iopan.pl

Ostatnio na całym świecie identyfikuje się wielolekooporne bakterie: patogenne, komensalne i środowiskowe. Rozprzestrzenianie oporności na antybiotyki zachodzi głównie na drodze horyzontalnego transferu genów (HGT), w którym biorą udział m.in. plazmidy oraz integrony. Do tej pory opisano pięć klas integronów, wśród których klasa 1 i 2 są najbardziej rozpowszechnione. Zmiennymi elementami integronów są kasety genowe. Kodują one oporność na antybiotyki, ale mogą również zawierać geny związane z adaptacją do zmieniających się warunków środowiskowych. W pracy testowano występowanie integronów klasy 1-3 w puli 442 szczepów pochodzących ze ścieków surowych i oczyszczonych (Grupowa Oczyszczalnia Ścieków „Dębogórze” zrzucająca ścieki oczyszczone do Zatoki Puckiej), hodowanych na podłożach z cefotaksymem. Szczegółowej analizie poddano jedyny szczep, w którym wykryto integron klasy 3. Zbadano lekowrażliwość metodą dyfuzyjno-krażkową oraz oznaczono najmniejsze stężenia hamujące (MIC) dla antybiotyków zgodnie z wytycznymi EUCAST, używając pasków z gradientem stężeń antybiotyku (E-test). Badany szczep wykazywał oporność na aztreonam, ciprofloksacynę, cefepim, cefotaksym i ceftazydim. Genomowe DNA szczepu poddano sekwencjonowaniu (NovaSeq6000, Illumina). Szczegółowa analiza sekwencji wykazała obecność czterech plazmidów, z których jeden zawierał integron klasy 3 oraz geny oporności na aminoglikozydy i fluorochinolony (*gen aac(6')-Ib-cr*) oraz na antybiotyki β -laktamowe (*gen blaOXA*). Plazmid ten należał do grupy niezgodności IncQ2. Plazmidy te zdolne są do replikacji w niezwykle szerokim zakresie gospodarzy. Badany szczep pochodzący ze ścieków oczyszczonych może być zatem wektorem przenoszącym geny antybiotykoodporności do środowiska morskiego ze ścieków.

DOMINACJA PANDEMICZNEGO KLONU ST131 WŚRÓD WIELOLEKOOPORNYCH SZCZEPÓW *ESCHERICHIA COLI* IZOLOWANYCH ZE ŚCIEKÓW W CZASIE PANDEMII COVID-19

I. Waśko¹, A. Kozińska¹, E. Kotlarska², A. Łuczkiewicz³, S. Fudala-Książek³, A. Baraniak¹

¹Narodowy Instytut Leków, Zakład Badań Biomedycznych, Chełmska 30/34, Warszawa, Polska

²Instytut Oceanologii Polskiej Akademii Nauk, Zakład Genetyki i Biotechnologii Morskiej, Powstańców Warszawy 55, Sopot, Polska

³Politechnika Gdańska, Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska, Narutowicza 11/12, Gdańsk, Polska

Autor korespondencyjny: i.wasko@nil.gov.pl

Wprowadzenie: Ważnym aspektem nadzoru sanitarno-epidemiologicznego pandemii COVID-19 było monitorowanie obecności materiału genetycznego SARS-CoV-2 w ściekach (wastewater based epidemiology, WBE), które wskazywało rzeczywiste trendy częstości występowania wirusa. Wyniki badań uzyskane z zastosowaniem analizy WBE w walce z COVID-19 uczyniły ją potencjalnym narzędziem do śledzenia również innych niebezpiecznych dla człowieka drobnoustrojów.

Cel badań: Analiza WBE szczepów *Escherichia coli* izolowanych w czasie pandemii COVID-19.

Materiały i metody: Szczepy *E. coli* izolowano na podłożu mFC z cefotaksymem ze ścieków surowych (SS) i oczyszczonych (SO) pobranych z oczyszczalni Gdynia-Dębogórze. Lekowrażliwość szczepów oznaczono metodą dyfuzyjno-krażkową. Typowanie izolatów przeprowadzono za pomocą analizy filogenetycznej, PFGE i MLST. Geny kodujące β-laktamazy oraz czynniki wirulencji wykrywano z zastosowaniem specyficznych reakcji PCR.

Wyniki: Łącznie ze ścieków wyizolowano 130 szczepów *E. coli* (n=50 z SS; n=80 z SO). Określenie lekowrażliwości wykazało wielolekooporność większości (96,8%) szczepów, a oporność na β-laktamy wynikała głównie z wytwarzania ESBL z rodziny CTX-M-1 (54%) lub CTX-M-9 (43%). Ponad połowa (53,8%) szczepów SS należała do filogrupy B2, natomiast wśród szczepów SO najczęstszą była filogrupa E (37,5%). Typowanie izolatów wykazało ich wysoką różnorodność (73 typy PFGE; 32 klony/ST w typowaniu MLST). Najczęstszymi identyfikowanymi genami wirulencji były: *fim* (93,8%), *aer* (43,8%) i *pap* (20,8%).

Podsumowanie: Wśród zidentyfikowanych klonów, dominującym (n=31; 23,8%) okazał się ST131, który należy do tzw. klonów wysokiego ryzyka, będących przyczyną zakażeń układu moczowego (ZUM). Szczepy *E. coli* ST131 izolowane były zarówno w próbkach SS jak i SO, choć w SS były reprezentowane znacznie liczniej. Uzyskane wyniki potwierdziły efektywność analizy WBE w ocenie jakości ścieków pod względem bezpieczeństwa sanitarnego.

CYJANOBAKTERIE W WODACH SŁODKICH – ADAPTACJA, INTERAKCJA, DOMINACJA

Dariusz Dziga

Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Gronostajowa 7, 30-381 Kraków, Polska

Autor korespondencyjny: dariusz.dziga@uj.edu.pl

Cyjanobakterie, rozpowszechnione we wszystkich środowiskach i strefach klimatycznych, dzięki możliwościom adaptacyjnym mogą zdominować niektóre ekosystemy wodne. Ich niezwykła zdolność do adaptacji oraz zdobywania przewagi nad innymi organizmami wynika z kombinacji unikalnych dla tej grupy mikroorganizmów cech, jak też z umiejętności szybkiego przystosowania się do zmieniających się warunków abiotycznych i biotycznych. Na tym ogólnym obrazie oddziaływań cyjanobakterii w środowiskach wodnych przedstawione zostaną przykłady badań prowadzonych na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, dotyczących m.in.: (i) genetycznych, fizjologicznych i biochemicznych mechanizmów adaptacji toksycznych/inwazyjnych cyjanobakterii, (ii) bioremediacji cyjanotoksyn z wód słodkich, (iii) interakcji cyjanobakterie-cyjanofagi oraz (iv) biologii syntetycznej cyjanobakterii w kontekście ich wykorzystania w biotechnologii przemysłowej i środowiskowej. Dzięki szerokiemu spektrum badań, prowadzonych w kooperacji z zespołami z polskich oraz zagranicznych jednostek naukowych możliwe jest szersze spojrzenie na problematykę występowania cyjanobakterii w wodach słodkich, ale także potencjalne możliwości ich wykorzystania w procesach biotechnologicznych.

FIZJOLOGICZNE I BIOCHEMICZNE MECHANIZMY ADAPTACJI SZCZEPÓW RAPHIDIOPSIS RACIBORSKII POCHODZĄCYCH Z RÓŻNYCH REJONÓW GEOGRAFICZNYCH DO STRESU CHILL/LIGHT

N. Tokodi^{1,2}, E. Latkowska¹, B. Klimczak¹, P. Malec³, A. Willis⁴, M. Kokociński⁵, D. Dziga¹

¹Pracownia Metabolomiki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków, Polska

²Department of Biology and Ecology, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovica 3, 21102 Novi Sad, Serbia

³Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków, Polska

⁴Australian National Algae Culture Collection, CSIRO, Hobart 7000, Tasmania, Australia

⁵Zakład Hydrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań, Polska

Autor korespondencyjny: ewa.latkowska@uj.edu.pl

Intensywny rozwój sinic w ekosystemach wodnych prowadzi do wielu problemów środowiskowych i ekonomicznych. W europejskich zbiornikach wody słodkiej coraz częściej notuje się obecność inwazyjnego gatunku *Raphidiopsis raciborskii* o dużej zdolności adaptacyjnej do zmieniających się warunków środowiskowych. Jednakże słabo poznane pozostają mechanizmy adaptacyjne toksycznych i potencjalnie toksycznych szczepów tego gatunku do różnych czynników środowiskowych, w szczególności do powszechnego w klimacie umiarkowanym czynnika stresowego związanego z niską temperaturą i silnym światłem, tzw. stres chill/light. Celem badań było opisanie fizjologicznych i biochemicznych podstaw adaptacji szczepów *R. raciborskii*, pochodzących z różnych rejonów geograficznych do tego typu stresu. W tym celu analizowano parametry związane ze wzrostem oraz natężeniem fotosyntezy i oddychania: tempo wzrostu, akumulację chlorofilu i NADPH, fluorescencję chlorofilu i produkcję oraz konsumpcję tlenu. Wyniki wskazują, że badane szczepy posiadają odmienne modele odpowiedzi na warunki stresowe i są zdolne do szybkiej maksymalizacji tempa wzrostu w warunkach zbliżonych do optymalnych. Akumulacja chlorofilu była mniejsza w hodowlach poddanych działaniu stresu, podczas gdy poziom wewnątrzkomórkowego NADPH był wyższy w obecności czynników stresowych we wszystkich analizowanych szczepach. Fotochemiczna wydajność kwantowa znacząco spadła w warunkach stresowych u wszystkich szczepów, z wyjątkiem toksycznego szczepu *R. raciborskii* CS-505. Co więcej, wszystkie badane szczepy zwiększyły natężenie oddychania podczas stresu. Na podstawie uzyskanych danych można wnioskować, że stres chill/light indukuje różne reakcje fizjologiczne i biochemiczne u badanych szczepów *R. raciborskii*, jednak wszystkie z nich mogą skutecznie reagować, utrzymując wydajność procesu fotosyntezy na stabilnym poziomie podczas stresu i ponownie zainicjować wzrost, gdy warunki ulegają poprawie, co wskazuje, że mechanizmy adaptacyjne zapewniają dobrą ochronę przed ciągłą zmianą warunków środowiskowych.

CYJANOFAGI MODULUJĄ METABOLIZM GOSPODARZA PROWADZĄC DO PRZEWAGI PROCESÓW KATABOLICZNYCH NAD ANABOLICZNYMI

A. Antosiak^{1,2}, B. Klimczak^{1,2}, A. Drabik³, P. Suder³, B. Skupień-Raban⁴, S. Šulčius⁵, S. Avrani⁶, D. Dziga¹

¹Jagiellonian University, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Kraków, Poland

²Jagiellonian University, Doctoral School of Exact and Natural Sciences, Kraków, Poland

³AGH University of Cracow, Faculty of Materials Sciences and Ceramics, Kraków, Poland

⁴Jagiellonian University, Malopolska Centre of Biotechnology, Kraków, Poland

⁵Nature Research Centre, Laboratory of Algology and Microbial Ecology, Vilnius, Lithuania

⁶Technion-Israel Institute of Technology, Faculty of Medicine, Haifa, Israel

Autor korespondencyjny: adam.antosiak@doctoral.uj.edu.pl

Morskie cyjanofagi są w stanie do pewnego stopnia kontrolować metabolizm zakażonych komórek cyjanobakterii, aby wydajnie namnażać wirusy potomne, jednak brakuje wystarczającej wiedzy na temat tego, w jaki sposób cyjanofagi słodkowodne zmieniają metabolizm gospodarza. Badania fizjologiczne i proteomiczne przeprowadzone na słodkowodnych cyjanobakteriach z gatunków *Aphanizomeon flos-aquae*, *Mircosystis aeruginosa* oraz *Raphdiopsis raciborskii* wykazały, że infekcja cyjanofagowa prowadzi do znacznego przemodelowania metabolizmu zakażonych komórek. Obniżenie wydajności fotoukładu II w zakażonych komórkach oraz zmniejszona ilość białek zaangażowanych w fazę jasną fotosyntezy wskazują, iż fotosynteza nie jest głównym sposobem pozyskiwania energii w procesie infekcji. Z kolei zwiększona ilość białek zaangażowanych w glikolizę, cykl kwasów trikarboksylowych i szlak pentozofosforanowy sugerują, że procesy kataboliczne przeważają nad anabolicznymi. Obserwacje te potwierdzają znacznie wyższe stężenia ATP i NADPH w zainfekowanych komórkach. Proces infekcji wpływa również na zwiększenie produkcji białek odpowiedzialnych za biosyntezę nukleotydów i aminokwasów. Zmiany metaboliczne wywołane infekcją cyjanofagową prowadzą do zwiększonej podaży energii, równoważników redukcyjnych oraz nukleotydów i aminokwasów niezbędnych do tworzenia wirusów potomnych.

ŚRODOWISKOWA KONTROLA METANOGENÓW I METANOTROFÓW W ZBIORNIKACH TORFOWISKOWYCH

S. Lew

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii i Mykologii, Oczapowskiego 1a, 10-719 Olsztyn

Autor korespondencyjny: sylwia.lew@uwm.edu.pl

Wody śródlądowe są ważnymi źródłami transportu metanu do atmosfery, stanowiąc nawet 40% całkowitej produkcji metanu z globalnych ekosystemów naturalnych. Ze względu na rolę metanogenów w produkcji metanu oraz znaczącą funkcję metanotrofów w kontrolowaniu strumienia emisji tego gazu do atmosfery podjęto badania mające na celu identyfikację czynników środowiskowych wpływających na metanogeny i metanotrofy wchodzące w skład mikrobiomu ekosystemów mokradłowych. Postawiono hipotezę, że skład zbiorowisk mikroorganizmów zaangażowanych w obieg metanu jest funkcją warunków fizykochemicznych wody oraz zależy od stężenia tlenu na różnych głębokościach zbiorników torfowiskowych. Strukturę metanogennych *Archaea* i bakterii utleniających metan (MOB) oznaczano z wykorzystaniem fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* w modyfikacji DOPE-FISH. Wyniki wykazały znaczące różnice w zbiorowiskach *Prokaryota* między środowiskiem tlenowym (podpowierzchniowym) i suboksydycznym (przydennym) w zbiornikach torfowiskowych. Metanogeny były obserwowane w okresach beztlenowych, podczas gdy metanotrofy były obecne niezależnie od głębokości wody i pory roku. Obfitość metanogenów była odwrotnie skorelowana z DO i CO₂. Metanotrofy natomiast lepiej przystosowały się do zmieniających się warunków siedliskowych i w warstwach powierzchniowych były dodatnio skorelowane z temperaturą, DOC i TON, podczas gdy ujemnie z pH. Najważniejszymi czynnikami regulującymi obecność MOB w warstwie naddennej były CO₂ i TON. Wykazano, że dostępność tlenu nie jest warunkiem niezbędnym dla obecności metanotrofów w zbiornikach torfowiskowych.

RÓŻNORODNOŚĆ ODDZIAŁYWAŃ POMIĘDZY CYJANOFAGAMI I CYJANOBAKTERIAMI

B. Klimczak^{1,2}, A. Łobodzińska^{1,2}, A. Antosiak^{1,2}, S. Młynarska¹, M. Bernasińska³,
N. Tokodi^{1,5}, S. Avrani⁴, S. Šulčius⁶, D. Dziga¹

¹Laboratory of Metabolomics, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology,
Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30387 Krakow, Poland

²Doctoral School of Exact and Natural Sciences, Jagiellonian University, Gronostajowa 7,
30387 Krakow, Poland

³Faculty of Biology, Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30387 Krakow, Poland

⁴Department of Evolutionary and Environmental Biology and The Institute of Evolution,
University of Haifa, Haifa, Israel

⁵University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Biology and Ecology, Trg
Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Serbia

⁶Laboratory of Algology and Microbial Ecology, Nature Research Centre, LT-08412 Vilnius,
Lithuania

Autor korespondencyjny: barbara.klimczak@doctoral.uj.edu.pl

Cyjanofagi, czyli wirusy infekujące cyjanobakterie odgrywają ważną rolę w ekosystemach wodnych regulując populację cyjanobakterii, wpływając zarówno na różnorodność genetyczną, jak i cykle biogeochemiczne. Szacuje się, że każdego dnia cyjanofagi na całym świecie uśmiercają około 20% wszystkich komórek sinic. Z tego powodu rozważa się ich wykorzystanie do ograniczania zakwitów cyjanobakterii. Istotnym problemem jest brak badań podstawowych dotyczących interakcji cyjanofagów i cyjanobakterii, co hamuje ich ewentualne wykorzystanie do zapobiegania zakwitom sinic. Nasze badania skoncentrowane są na relacji wirus-gospodarz między wybranymi szczepami słodkowodnych cyjanobakterii z gatunków *Microcystis aeruginosa* (szczepy NIES-298 i PCC7813) i *Raphidiopsis raciborskii* (szczepy wyizolowane w Izraelu, Polsce i Australii) oraz dwoma cyjanofagami pochodzącymi z różnych stref klimatycznych i wykazujących odmienne mechanizmy infekcji. Celem było ustalenie potencjału obu cyjanofagów do infekcji szczepów sinic innych niż pierwotnie opisane jako ich naturalni gospodarze. Wykazano, że oba fagi mogą modulować fizjologię szczepów niekanonicznych hamując ich wzrost i aktywność fotosyntetyczną. Zweryfikowano także możliwość namnażania cząstek wirusowych. Obecność cyjanofagów prowadziła do różnych zmian w toksyczności. W przypadku pełnej infekcji obserwowano znaczący spadek zawartości toksyn. Jednakże w sytuacji częściowej lizy komórek lub jej braku (przy jednoczesnych zmianach fizjologii) wykazano zwiększenie stężenia toksyn w komórce. Może to wskazywać na selekcję szczepów bardziej toksycznych, co jest szczególnie istotne dla środowiska i zdrowia ludzi.

BADANIE WPLYWU WSPÓŁHODOWLI PIĘCIU NOWOPOZNANYCH GATUNKÓW SINIC NA ROŚLINĘ WODNĄ *LEMNA TRISULCA*

Bartosz Lelito^{1,2}, Ariel Kaminski^{1,3}, Manthos Panou³, Dimitris Pappas³, Emmanuel Panteris³,
Spyros Gkelis³

¹Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Pracownia
Metabolomiki, ul. Gronostajowa7, 30-387 Kraków, Polska

²Uniwersytet Jagielloński, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, ul. prof. S.
Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków, Polska

³Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology, Department of Botany, GR-541 24
Saloniki, Grecja

Autor korespondencyjny: Bartosz.lelito@doctoral.uj.edu.pl

Sinice to gromada samożywnych prokariotów zdolnych do produkcji licznych, użytecznych związków chemicznych. Co roku odkrywane i badane są nowe gatunki, których metabolom może zawierać nieznane lub rzadko występujące cząsteczki. Grupa naukowców z Grecji opisała niedawno pięć nowych przedstawicieli sinic: *Iphianassa zackieohae*, *Jaaginema* sp., *Komarekiella chia*, *Nodularia mediterranea* i *Trichormus variabilis*. Zbadano wpływ wymienionych gatunków na roślinę wodną *Lemna trisulca*, która wykazała zdolność do ograniczania zakwitów sinicowych [1]. Oszacowano również toksyczność ekstraktów z badanych sinic w testach Thamnotoxkit F i Algaltokit F firmy Tigret. Wyniki wskazują, że wszystkie badane gatunki, oprócz *I. zackieohae*, w czasie wspólnej kultury ograniczają wzrost *L. trisulca* i powodują zwiększenie w niej zawartości karotenoidów. Sinice *Jaaginema* sp., *N. mediterranea* i *K. chia* podwyższają również całkowitą zawartość białek w roślinie. Gatunki *Jaaginema* sp., *N. mediterranea* i *T. variabilis* wykazują zdolność do alkalizacji środowiska w obecności makrofitu. Jedynie dla *Jaaginema* sp. i *T. variabilis* wykazano toksyczność w teście Thamnotoxkit F. Zaobserwowano, że ekstrakty z badanych sinic wpływają na intensywność oddychania i fotosyntezy *L. trisulca*. W przypadku *K. chia* zaobserwowano zjawisko „paraliżu metabolicznego”, czyli przejściowego, prawie całkowitego zahamowania oddychania i fotosyntezy. Przy użyciu UHPLC oznaczono śladowe ilości mikrocystyny-LR w *I. zackieohae* i *T. variabilis*. Nie zaobserwowano większych zmian w poziomie chlorofilu a i b w *L. trisulca* oraz w poziomie rozpuszczonego tlenu w pożywce. Oceniono, że test Algaltokit F nie nadaje się do pomiaru toksyczności ekstraktów z sinic. Otrzymane wyniki wskazują, że *Jaaginema* sp., *N. mediterranea*, *T. variabilis* oraz *K. chia* są zdolne do produkcji szkodliwych związków bioaktywnych.

[1] Kucala M et al (2021), Phytoremediation of CYN, MC-LR and ANTX-a from Water by the Submerged Macrophyte *Lemna trisulca*. *Cells*, 10, 699.

CYJANOBakterie Bałtyckie: W poszukiwaniu alternatywy dla antybiotyków

A. Toruńska-Sitarz¹, A. Dzenrdowska², A. Markiewicz¹, A. Ogrodnicka¹, M. Socha¹,
D. Overlinge³, H. Mazur-Marzec¹

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii, Aleja Marszałka Piłsudskiego 46,
81-382 Gdynia, Polska

²Instytut Morski Uniwersytetu Morskiego w Gdyni, Długi Targ 41/42, 80-830 Gdańsk, Polska

³Uniwersytet w Kłajpedzie, Morski Instytut Badawczy, Universiteto Aleja 17, 92295 Kłajpeda,
Litwa

Autor korespondencyjny: anna.torunska@ug.edu.pl

Według Światowej Organizacji Zdrowia, oporność na antybiotyki to jedno z 10 największych zagrożeń dla ludzkości w XXI wieku [1]. Zjawisko to było przyczyną śmierci stu osób dziennie w Europie w 2020 roku, a w związku z rosnącą lekoopornością patogenów systemy opieki zdrowotnej krajów europejskich ponoszą roczne straty w wysokości ok. 1 mld € [2]. Wyzwaniem dla naukowców i przemysłu farmaceutycznego jest więc szybkie opracowanie skutecznej alternatywy dla obecnie stosowanych leków. Przez wiele dziesięcioleci głównie mikroorganizmy glebowe były wykorzystywane jako źródło związków stanowiących punkt wyjścia do projektowania antybiotyków. Nowym zasobem eksplorowanym pod tym kątem w ostatnich latach są mikroorganizmy morskie. Celem prezentowanych badań była 1) selekcja bałtyckich szczepów zdeponowanych w kolekcji Pracowni Biotechnologii Morskiej Uniwersytetu Gdańskiego, które wykazują najsilniejszą aktywność antybakteryjną; 2) identyfikacja wybranych metabolitów aktywnych biologicznie. Oceniono aktywność surowych ekstraktów etanolowych i heksanowych, pozyskanych z 45 szczepów cyjanobakterii. Testy z zastosowaniem metody mikrorozcieńczeń w podłożu płynnym wykonano na lekoopornych, klinicznych izolatach z grupy ESCAPE [4], a także na szczepach *Streptococcus pyogenes*, *Mycobacterium smegmatis* oraz *Chromobacterium violaceum*. Aktywność antybakteryjną wykazały głównie ekstrakty pozyskane ze szczepów sinic należących do rzędów Oscillatoriales i Nostocales. Do dalszych badań wyselekcjonowano ekstrakty ze szczepów o najsilniejszej aktywności (odnotwanej w stężeniu <100 µg/mL): *Aphanizomenon* sp. KUCCC1, oraz *Pseudanabaena* sp. KUCC C3. W celu identyfikacji aktywnych frakcji/związków zastosowano podejście izolacji sterowanej aktywnością (ang. bioactivity guided isolation), z wykorzystaniem chromatografii preparatywnej i spektrometrii mas.

Finansowanie:

Litewska Narodowa Fundacja Nauki, numer grantu S-PD-22-16 CyanoSure

Bibliografia:

[1] WHO, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (dostęp: 29.06.2023)

[2] Rada Europejska, <https://www.consilium.europa.eu/en/infographics/antimicrobial-resistance/>, (dostęp: 29.06.2023)

[3] Miethke M et al. (2021) Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics. *Nat Rev Chem* 5: 726-749.

[4] Oliveira et al. (2020) Antimicrobial Resistance in ESCAPE Pathogens. *CMR* 33(3): e00181-19.

WROTKI *LECANE INERMIS* JAKO OBIECUJĄCE NARZĘDZIE DO USUWANIA MIKROPLASTIKÓW Z WODY

Agnieszka Pajdak-Stós¹, Edyta Fiałkowska¹, Filip Hajdyla², Wojciech Fiałkowski¹

¹ Instytut Nauk o Środowisku, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska

² Zakład Biochemii Analitycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska

Autor korespondencyjny: agnieszka.pajdak-stos@uj.edu.pl

Zanieczyszczenie tworzywami sztucznymi jest jednym z najpilniejszych problemów współczesnego świata. Każdego roku produkowanych jest ponad 300 milionów ton odpadów z tworzyw sztucznych, a tempo wzrostu produkcji odpadów sięga 9% rocznie. Tworzywa sztuczne rozkładają się niezwykle wolno, a ich gromadzenie się w środowisku jest największym zagrożeniem dla przyrody. Najmniejsza frakcja (<5 mm) nazywana jest mikroplastikiem (MP). Jednymi z najbardziej uciążliwych są mikrodrobiny plastiku o wielkości od jednego do kilku mikrometrów, które są rozproszone w wodzie i mogą przenikać do tkanek roślinnych i zwierzęcych.

Przeprowadziliśmy serię eksperymentów, w których testowaliśmy zdolność wyizolowanych z oczyszczalni ścieków wrotków *Lecane inermis* do odżywiania się znakowanym fluorescencyjnie mikroplastikiem (1 µm) w zależności od tego czy występuje on w formie rozproszonej, czy związanej z biofilmem, oceniliśmy wpływ mikroplastiku na tempo namnażania wrotków i porównaliśmy zdolność *L. inermis* do agregowania mikroplastików zawieszonych w wodzie i związanych z biofilmem. Nasze wyniki wskazują, że gdy zawiesina mikroplastików zostaje dodana do biofilmu i poddana działaniu wrotków, mikroplastiki w krótkim czasie przechodzą przez układ pokarmowy wrotków, gdzie są kompresowane w formie zwartych agregatów.

W eksperymentach wykazaliśmy, że: wrotki preferują mikroplastiki związane z biofilmem, obecność mikroplastików nie wpływa na wzrost i płodność wrotków oraz że agregacja MP jest znacznie bardziej efektywna dzięki obecności biofilmu, na którym żerują wrotki. Nasze odkrycia pomogą zrozumieć rolę żywiących się biofilmem mikroorganizmów takich jak *L. inermis* w obiegu mikroplastików w przyrodzie. W dalszej perspektywie nasze wyniki mogą pomóc w opracowaniu narzędzi biotechnologicznych do usuwania MP ze środowiska wodnego.

WPLYW CZĄSTEK MIKROPLASTIKU NA ŻYWOTNOŚĆ WYBRANYCH ORZĘSKÓW

M. A. Budziak¹, J. Fyda¹

¹Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biologii, Instytut Nauk o Środowisku, ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków, Polska

Autor korespondencyjny: janusz.fyda@uj.edu.pl

Mikroplastiki (MPs) są aktualnie jednym z najczęściej badanych typów zanieczyszczeń. W środowisku wodnym, rozmiary MPs pokrywają się często z wielkością typowego pokarmu drobnych filtratorów i drapieżników, ale niewiele badań dotyczyło pochłaniania MPs przez pierwotniaki. Orzęski, stanowią istotny element pętli mikroorganizmalnej i piramidy troficznej, a zjadane przez drapieżniki mogą przenosić mikroplastiki na wyższe poziomy troficzne. Do eksperymentów wykorzystano trzy różne gatunki orzęsków: *Blepharisma japonicum*, *Euplotes* sp. i *Spirostomum teres* oraz dwa rodzaje polistyrenowych kulek o średnicy 1 i 2 μm , używanych każde w dwóch zagęszczeniach 10^6 i 10^7 kulek $\times \text{mL}^{-1}$. Wyniki przeprowadzonych eksperymentów wykazały, że zagęszczenie mikroplastików wpływa na tempo podziału orzęsków i tempo wzrostu populacji w środowisku ($p < 0.01$). Ponadto stwierdzono, że liczba mikrokulek pochłanianych przez orzęski, wzrasta w czasie i zależy od ich zagęszczenia i wielkości. Średnio, najwięcej pochłoniętych mikrokulek ($883,11 \pm 521,47$) stwierdzono u *B. japonicum* po 60 minutach ekspozycji w niskim zagęszczeniu kulek o średnicy 1 μm , a najmniejszą liczbę kulek obserwowano po 5 minutach w niskim zagęszczeniu większych kulek. Tempo pochłaniania MPs przez wybrane gatunki orzęsków było statystycznie istotnie zależne od ich zagęszczenia, czasu ekspozycji i rozmiaru ($p < 0.001$). Najwyższe tempo pochłaniania MPs, stwierdzono u orzęsków wkrótce po rozpoczęciu eksperymentów w środowisku o najniższym zagęszczeniu mikroplastików.

CHARAKTERYSTYKA I ZMIENNOŚĆ ZBIOROWISKA MIKROORGANIZMÓW W FERMENTACJI METANOWEJ

A. Ziemińska-Buczyńska¹, F. Gamoń¹, M. S. Hellal¹, K. K. Kadimpati¹, G. Cema¹, J. Surmacz-Górska¹

¹Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Politechnika Śląska, ul. Akademicka 2, 44-100 Gliwice

Autor korespondencyjny: aleksandra.ziembinska-buczynska@polsl.pl

Procesy pozyskiwania zielonej energii są zagadnieniem wyjątkowo ważnym, zarówno w kontekście ochrony środowiska oraz odzyskiwania zasobów i energii. Procesy efektywnej produkcji mikrobiologicznej biopaliw stanowią ważny element przetwarzania biologicznych odpadów i produkcji bioenergii. Fermentacja metanowa stanowi przykład wykorzystania mikroorganizmów do produkcji energii z odpadów organicznych o różnym składzie. Efektywność produkcji metanu oraz jego stężenie w wyprodukowanym biogazie zależy nie tylko od warunków prowadzenia procesu i jakości i składu dozowanego odpadu, ale również od składu jakościowo-ilościowego oraz aktywności poszczególnych grup mikroorganizmów odpowiedzialnych za prowadzenie poszczególnych etapów procesu. Zjawisko kształtowania się wyspecjalizowanego funkcjonalnego zbiorowiska mikroorganizmów prowadzącego określony proces biochemiczny jest ważne nie tylko z punktu widzenia efektywności procesu, ale również szeroko pojętej ekologii mikroorganizmów. W prezentowanym eksperymencie zbadano skład zbiorowiska mikroorganizmów w dwóch bioreaktorach prowadzących proces metanogenezy w czasie wpracowania procesu fermentacji metanowej na osadach ściekowych pochodzących z komunalnej oczyszczalni ścieków. Analizę struktury i zmienności zbiorowiska prowadzono metodą sekwencjonowania nowej generacji z użyciem fragmentu genu kodującego 16S rRNA. Proces był monitorowany pod kątem efektywności produkcji biogazu oraz jego składu. Zbiorowisko obu bioreaktorów w procesie wpracowania pierwotnie było zdominowane przez typy *Anaerolineae* i *Bacteroidia*, w końcowej fazie wpracowania procesu zwiększyła się frakcja *Clostridia* oraz *Actinobacteria*, a największa zmiana zaszła w liczebności *Acidimicrobiia*. Struktura zbiorowiska obu bioreaktorów wyglądała podobnie, z niewielkimi różnicami w proporcjach poszczególnych grup bakterii. Efektywność produkcji biogazu w obu bioreaktorach również kształtowała się na podobnym poziomie. Po rozpoczęciu dozowania wodoru, stymulującego proces biometanacji, struktura zbiorowiska bioreaktora eksperymentalnego nie ulegała większym zmianom na poziomie typu, jednak produkowany w nim biogaz zawierał o 9-12% więcej metanu.

Podziękowania: Prezentowane badania są finansowane w ramach projektu POL-NOR 2020-23, Anaerobic biorefinery for resource recovery from waste feedstock, Wastevalue nr kontraktu: NOR/POLNOR/WASTEVALUE/0002/2019-00. A. Ziemińska-Buczyńska jest finansowana z projektu MEIN w ramach wsparcia działalności statutowej Wydziału Inżynierii Środowiska i Energetyki Politechniki Śląskiej z projektu o numerze: 08/070/BK_23/0024 (BK-253/RIE7/2023).



ODDZIAŁYWANIE GLIFOSATU NA DROBNOUSTROJE OSADU CZYNNEGO

Klaudia Kwiatkowska

Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Warszawska 24, 31-155 Kraków

Autor korespondencyjny: klaudia.kwiatkowska@pk.edu.pl

Użytkowanie herbicydów glifosatowych nie odbywa się bez reperkusji. Masowe protesty wybuchły w Europie w 2015 roku, gdy Komisja Europejska przedłużyła licencję na stosowanie herbicydów na bazie glifosatu w krajach UE. To wówczas wtedy Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakim Światowej Organizacji Zdrowia (IARC) stwierdziła, że glifosat jest „prawdopodobnie rakotwórczy”. Przepuszczalnie, w ciągu ostatnich 10 lat na całym świecie zużyto ponad 6 miliardów kilogramów herbicydu Roundup. Z tego względu ważnym aspektem jest dokładne poznanie, jakie odgrywa ryzyko, zwłaszcza dla pracowników rolnych, konsumentów żywności oraz w jaki sposób zagraża środowisku przyrodniczemu [3]. Osad czynny jest swoistym ekosystemem, w którym zachodzą różnorodne procesy fizyczne i biologiczne, prowadząc tym samym do oczyszczania ścieków. Mikroorganizmy wchodzące w skład osadu czynnego, wytwarzają enzymy, umożliwiające katalizację reakcji biochemicznych, w konsekwencji prowadząc do rozkładu związków wielkocząsteczkowych (białek, tłuszczów, cukrów) do końcowych produktów nieorganicznych takich jak CO_2 , H_2O oraz NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} . Makroskopowo osad czynny przyjmuje postać kłaczków, a związki, które są zawarte w ściekach absorbują się na ich powierzchni, tym samym powodując rozpad na mniejsze fragmenty [2]. Podstawowa idea dotycząca zrównoważonego rolnictwa jest ochrona gleby dla przyszłych pokoleń. Dlatego tak istotne jest, aby wziąć pod uwagę możliwość przenikania do gleby herbicydów oraz ich adiwuwatów. Wysoka mobilność glifoastu do środowiska wodnego również może negatywnie przyczyniać się do oczyszczania ścieków metodą osadu czynnego. Glifosat może być biodegradowany przez bakterie osadu czynnego, natomiast równocześnie może powodować negatywne zjawisko jakim jest puchnięcie osadu czynnego, co z kolei prowadzi do pogorszenia zdolności osadu do sedymentacji i zakłócania procesów oczyszczania ścieków [1].

[1] Balthazor T.M, Hallas L.E (1986) Glyphosate degrading microorganisms form industrial activated sludge, *Environmental Microbiology*, 51: 432–434.

[2] Gryta A. et al. (2013). Application of Biology Ecoplate® to monitor the ecotoxicity status of sewage sludge (a review), *Acta Agrophysica*, 174 No. 4

[3] Kowalska G, Kowalski R (2020). Pestycydy – zakres i ryzyko stosowania, korzyści i zagrożenia-praca przeglądowa, *Annales Horticulturae* 29: 5-25

ZALEŻNOŚCI POMIĘDZY WYSTĘPOWANIEM BAKTERII Z RODZAJU *LEGIONELLA* I *AEROMONAS* A SPOŁECZNOŚCIĄ MIKROORGANIZMÓW ZASIEDLAJĄCYCH WODY SYSTEMU WIELKICH JEZIOR MAZURSKICH W GRADIENTCIE EUTROFIZACJI

K.Grabowska-Grucza¹, W. Siuda¹, B. Kiersztyn¹

¹Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Instytut Biologii Funkcjonalnej i Ekologii, Żwirki i Wigury 101, 02-089 Warszawa,

Autor korespondencyjny: k.grabowska7@uw.edu.pl

Antropogeniczna eutrofizacja wraz z globalnym ociepleniem klimatu stwarzają preferencyjne warunki dla rozwoju heterotroficznych mikroorganizmów, w tym bakterii patogennych. Zanieczyszczenia mikrobiologiczne są jednymi z największych zagrożeń dla środowisk wodnych na całym świecie. W naszych badaniach skupiliśmy się na zbiornikach wodnych Wielkich Jezior Mazurskich, które stanowią unikalny system połączonych ze sobą jezior, charakteryzujący się obecnością gradientu eutroficznego. Dotychczasowe badania wykazały, że obecność patogennych bakterii, ściśle związanych ze środowiskiem wodnym, np z rodzaju *Legionella* jest związana z antropogeniczną eutrofizacją. W naszych badaniach skupiliśmy się na weryfikacji hipotezy, iż specyficzny skład taksonomiczny zespołów mikroorganizmów wpływa na występowanie bakterii patogennych z rodzaju *Legionella* i *Aeromonas*. Nasze analizy wykonywane na przestrzeni kilku sezonów (wiosna, lato, jesień) w zbiornikach o różnym stopniu eutrofizacji wykazały związek z występowaniem *Legionella* spp. a składem taksonomicznym bakterii w eutroficznych zbiornikach wodnych. Najsilniejszą pozytywną korelację zaobserwowaliśmy z bakteriami z rodziny *Pirellulaceae*, *Mycobacteriaceae* and *Gemmataceae*. Z kolei bakterie z rodzin *Sporichthyaceae*, *Flavobacteriaceae*, oraz wielu rodzin w obrębie klasy *Verrucomicrobia* wpływały negatywnie na występowanie *Legionella* spp. Wyniki naszych badań zostały potwierdzone również przy zastosowaniu automatycznych sieci neuronowych, których modele oferują podobne do rzeczywistych frekwencje bakterii z rodzaju *Legionella* spp. W przypadku *Aeromonas* spp. nie znaleźliśmy wyraźnych relacji z towarzyszącymi mikroorganizmami w badanych zbiornikach wodnych.

POTENCJALNIE CHOROBOTWÓRCZE BAKTERIE W WODZIE I PIASKU KĄPIELISK W KOŁOBRZEGU

A. Bruska¹, J. Mokracka¹, R. Koczura¹

¹Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Zakład Mikrobiologii, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614, Polska

Autor korespondencyjny: ryszard.koczura@amu.edu.pl

Obecność potencjalnie chorobotwórczych bakterii w wodzie i piasku kąpielisk może stwarzać zagrożenia dla zdrowia korzystających z nich osób. Wymogi mikrobiologiczne dotyczące jakości wody w kąpieliskach i miejscach wykorzystywanych do kąpieli nie obejmują wszystkich patogenów, dlatego celem pracy była molekularna detekcja wybranych, potencjalnie chorobotwórczych bakterii w dwóch popularnych kąpieliskach nad Bałtykiem. Próbkę wody i osadu pobierano czterokrotnie w okresie od listopada 2021 do lipca 2022, w dwóch kąpieliskach w Kołobrzegu (przy molo i w Podczelu) i transportowano w laboratorium w 4°C. Wybrane potencjalnie chorobotwórcze bakterie izolowano na podłożach selekcyjnych i identyfikowano metodą PCR ze starterami komplementarnymi do specyficznych genów: *sec* (*Staphylococcus aureus*), *groES* (*Enterococcus faecalis*) i *vvh* (*Vibrio vulnificus*). Dodatkowo, występowanie ww. bakterii określano też metodą cyfrowego PCR (dPCR) w metagenomowym DNA izolowanym bezpośrednio z próbek wody i piasku. Liczba *E. faecalis* wynosiła od 0 do 28 jtk/100 ml wody. Bakterii tych nie wyizolowano z piasku. Liczba *S. aureus* wynosiła od 0 do 15 jtk/ml wody i od 0 do 39 jtk/g piasku. Jeden z izolatów miał gen *mecA*, warunkujący oporność na metycylinę. Liczba *V. vulnificus* wynosiła od 0 do 26 jtk/ml wody. Średnia kopii genów w metagenomowym DNA wody wynosiła $6,8 \times 10^2$ dla genu *groES* oraz $2,7 \times 10^1$ dla genu *sec*. Średnia kopii genów w metagenomowym DNA piasku wynosiła $3,5 \times 10^2$ dla genu *groES* oraz $3,4 \times 10^1$ dla genu *sec*.

LEKOOPORNOŚĆ BAKTERII FEKALNYCH W ŚRODOWISKU WODNYM PRZEZNACZONYM DO CELÓW REKREACYJNYCH: PODEJŚCIE FENOTYPOWE I MOLEKULARNE

Ł. Kubera¹, M. Harnisz², D. Rolbiecki²

¹Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Wydział Nauk Biologicznych, Katedra Mikrobiologii i Immunobiologii, ul. Powstańców Wielkopolskich 10, 85-090 Bydgoszcz, Polska

²Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Geoinżynierii, Katedra Inżynierii Ochrony Wód i Mikrobiologii Środowiskowej, ul. Prawocheńskiego 15, 10-720 Olsztyn, Polska

Autor korespondencyjny: kubera@ukw.edu.pl

Jednym z największych współczesnych problemów stanowiących zagrożenie dla zdrowia publicznego jest coraz częstsze nabywanie przez bakterie oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe. Rozpowszechnione stosowanie antybiotyków zarówno w medycynie jak i w rolnictwie doprowadziło w ostatnich latach do wzrostu ilości lekoopornych bakterii również w środowiskach naturalnych. Dlatego celem niniejszej pracy była ocena występowania i lekooporności szczepów bakterii fekalnych izolowanych z warstwy bakterioplanktonu trzech jezior wykorzystywanych w celach rekreacyjnych zlokalizowanych na terenie Zaborskiego Parku Krajobrazowego. W badaniu wykorzystano 20 izolatów *Escherichia coli* oraz 26 izolatów paciorkowców kałowych, z czego 4 reprezentowane były przez *Enterococcus faecalis* a 17 przez *Enterococcus faecium*. Oporność bakterii kałowych na wybrane antybiotyki oznaczano za pomocą metody dyfuzjno-krażkowej zgodnie z rekomendacjami The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). W badaniu zastosowano należące do różnych grup antybiotyki takie jak ampicylina, piperacylina, imipenem, lewofloksacyna, wankomycyna, tigeicyklina, gentamycyna oraz cefepim. Dodatkowo w reakcji PCR przeprowadzono amplifikację specyficznych genów lekooporności (*vanA*, *tetA*, *qepA*, *aadA9* oraz *CTX*, *TEM*, *OXA-51* i *SHV* z grupy genów *bla*), gdzie jako kontrolę wykorzystano szczepy izolowane ze ścieków. Z przeprowadzonych analiz wynika, że izolaty bakterii fekalnych w różnym stopniu wykazywały fenotypowo oporność na każdy z zastosowanych antybiotyków. Jedynie szczepy *Escherichia coli* wykazywały 100% wrażliwość na tigeicyklinę. Nie odnotowano natomiast występowania żadnego z amplifikowanych genów oporności zarówno w szczepach bakterii *Escherichia coli* jak i paciorkowców kałowych. Wyniki niniejszych badań wskazują, że lekooporność szczepów izolowanych ze środowisk naturalnych jest prawdopodobnie indukowana przez inne geny niż szczepów bytujących w ściekach komunalnych. Wyniki sugerują jednocześnie na konieczność prowadzenia dalszych badań w zakresie wykrywania mechanizmów oporności wśród szczepów bakterii środowiskowych.

„Projekt finansowany w ramach programu Ministra Edukacji i Nauki pod nazwą „Regionalna Inicjatywa Doskonałości” w latach 2019 - 2023 nr projektu 008/RID/2018/19”

GENY OPORNOŚCI NA KOLISTYNĘ U SZCZEPÓW WYZOŁOWANYCH Z CENTRALNEJ OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW W KOZIEGŁOWACH

W. Kwapisz¹, R. Koczura¹, J. Mokracka¹

¹Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Zakład Mikrobiologii, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614, Polska

Autor korespondencyjny: joanna.mokracka@amu.edu.pl

Kolistyna (polimyksyna E), antybiotyk peptydowy jest lekiem tzw. "ostatniej szansy", stosowanym w przypadku infekcji wywoływanych przez karbapenemooporne pałeczki Gram-ujemne. Do niedawna oporność pałeczek G(-) na kolistynę występowała rzadko, jednak w ostatnich latach wykryto gen *mcr* warunkujący oporność na ten antybiotyk i umiejscowiony na plazmidzie, co skutkuje jego rozprzestrzenianiem się na drodze horyzontalnego transferu genów. Celem pracy było określenie występowania genów *mcr* u kolistynoopornych bakterii grupy coli oraz w metagenomowym DNA ze ścieków z mechaniczno-biologicznej oczyszczalni ścieków w Koziegłowach. Materiałem były ścieki nieoczyszczone, oczyszczone i z komory napowietrzania, pobierane sezonowo przez rok, w latach 2021-2022, oraz metagenomowy DNA ścieków pobranych w latach 2015-2017. Kolistynooporne bakterie grupy coli selekcionowano na podłożu Brilliance *E.coli*/Coliform Selective Agar z kolistyną (4 µg/ml). W genomach wyizolowanych szczepów wykrywano dziewięć wariantów genów *mcr*, a zamplifikowane fragmenty DNA sekwencjonowano. Liczbę kopii genów 16S rRNA, *mcr1* i *mcr3* w metagenomowym DNA ścieków oznaczano metodą real-time PCR i cyfrowego PCR. W genomach 0,3% izolatów opornych na kolistynę zidentyfikowano gen *mcr1*. Szczepy te pochodziły ze ścieku oczyszczonego. W metagenomie ścieków pobranych w latach 2021-22 odnotowano mniejszą liczbę kopii genów *mcr1* i *mcr3*, jak i mniejsze częstości w porównaniu z latami 2015-17. W latach 2015-17 częstość względna genów *mcr1* i *mcr3* w metagenomowym DNA ścieków oczyszczonych istotnie wzrastała w porównaniu ze ściekami nieoczyszczonymi. Występowanie kolistynoopornych szczepów *E. coli* z genem *mcr1* oraz obecność *mcr1* i *mcr3* w metagenomie ścieków oczyszczonych zrzucanych rzeki Warty, świadczy o tym, że oczyszczalnia ścieków jest drogą rozprzestrzeniania się w środowisku wodnym oporności na kolistynę.

MIKROBIOM BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH FILTRÓW WĘGLOWYCH STOSOWANYCH DO OCZYSZCZANIA WODY PRZEZNACZONEJ DO SPOŻYCIA

B. Mądrecka-Witkowska¹, M. Komorowska-Kaufman¹, A. Pruss¹, A. Trzebny², M. Dabert²

¹Inżynierii Środowiska i Instalacji Budowlanych, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Politechnika Poznańska, Berdychowo 4, 60-965 Poznań, Polska

²Laboratorium Techniki Biologii Molekularnej, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614, Poznań, Polska

Autor korespondencyjny: beata.madrecka@put.poznan.pl

Proces filtracji przez biologicznie aktywne filtry węglowe (BAF) jest nowoczesną, coraz częściej stosowaną na stacjach uzdatniania wody metodą oczyszczania wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Przy jego zastosowaniu możliwe jest efektywne usunięcie z wody rozpuszczonej materii organicznej i prekursorów ubocznych produktów dezynfekcji oraz wielu zanieczyszczeń zaliczanych m.in. do ksenobiotyków i toksyn, a także niektórych związków nieorganicznych np. amoniaku i manganu(II). Proces ten zapewnia mniejsze zużycie dezynfektantów oraz stabilność mikrobiologiczną wody w sieci wodociągowej. Oczyszczanie wody odbywa się dzięki adsorpcji zanieczyszczeń na ziarnach granulowanego węgla aktywnego, który tworzy złożę filtracyjne oraz na skutek biodegradacji prowadzonej przez mikroorganizmy zasiedlające filtr. Celem badań było określenie składu zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających złożę dwóch filtrów pospiesznych pracujących w skali pilotowej. Szczególną uwagę zwrócono na taksony dominujące w badanych zbiorowiskach oraz na możliwość występowania w BAF mikroorganizmów patogennych oraz oportunistycznych. Badania wykonano na filtrach o następujących parametrach: wysokość kolumny filtracyjnej – 300 cm; całkowita wysokość złoża - 210 cm; średnica wewnętrzna kolumny – 10 cm; złożę filtracyjne – granulowany węgiel aktywny (WG-12, Gryfskand Ltd., Polska). Filtry różniły się składem zasilanej wody: Filtr 1 był zasilany wyłącznie wodą kranową, a Filtr 2 wodą kranową wzbogaconą roztworem biohumusu. Próbkę złoża do badań zostały pobrane na początku i końcu wybranych cykli filtracyjnych. Analiza obejmowała określenie składu mikrobiomu i względnej liczebności mikroorganizmów przy pomocy technik NGS – sekwencjonowanie metagenomowe 16S rRNA przy użyciu systemu Ion Torrent. W obydwóch filtrach dominowały bakterie należące do *Xanthobacteraceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Rhodospirillales*. Wśród taksonów potencjalnie chorobotwórczych zidentyfikowano m.in.: *Legionella*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Nocardia*, lecz ich względna liczebność była zwykle bardzo niska.

Badania zostały sfinansowane przez NCN, Polska [nr projektu 2019/03/X/NZ9/01051] oraz z projektów finansowanych z subwencji badawczej Politechniki Poznańskiej [nr projektów: 5200201/0010/0713/SBAD/0958 oraz 5200201/0010/0713/SBAD/0981].

APPLICATION AND COMPARISON OF VARIOUS COMPOSITES COATED WITH TiO₂ – DOES IT HAVE AN IMPACT ON CYANOTOXINS AND CYANOBACTERIAL BLOOMS?

S. Selvaraj^{1,2}, A. Kaminski²

¹ Jagiellonian University, Doctoral School of Exact and Natural Sciences, prof. S. Łojaciewicza 11 St. 7, 30-348 Cracow, Poland.

² Jagiellonian University, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Laboratory of Metabolomics, Gronostajowa 7, 30-387 Cracow, Poland

Autor korespondencyjny: ariel.kaminski@uj.edu.pl

Ekosystemy słodkowodne mają kluczowe znaczenie dla fauny i flory wodnej, ale są podatne na szkodliwe zakwity glonów powodowane przez cyjanobakterie (Cyano-HAB). Te cyjanotoksyny stanowią zagrożenie dla zdrowia publicznego poprzez kontakt ze skórą lub spożycie zanieczyszczonej wody pitnej lub żywności. Aby ograniczyć występowanie zakwitów sinicowych, potrzebne są skuteczne procedury fizyczne, chemiczne, technologiczne lub biologiczne usuwające toksyny zewnątrzkomórkowe rozpuszczone w wodzie. Zaawansowane procesy utleniania (AOP) z rdzeniem z węgla aktywnego i kompozytami polimerowymi mają na celu zminimalizowanie lub usunięcie cyjanotoksyn w stosunkowo krótkim czasie. Fotokataliza dwutlenku tytanu (TiO₂) jest skuteczną techniką degradacji cyjanotoksyn, przy czym TiO₂ aktywowany promieniowaniem UV jest stosunkowo niedrogim i prostym podejściem do uzdatniania wody pitnej. Badanie ma na celu znalezienie skutecznej i niedrożej metody fotokatalityczno-chemicznej remediacji cyjanotoksyn oraz wpływu na CyanoHabs. W tym badaniu przeanalizowano adsorpcję i desorpcję mikrocystyny-LR i anatoksyny- α do dwóch kompozytów pokrytych TiO₂. W przypadku McLR pierwszy kompozyt, RFM-15520PT35-850, miał początkową adsorpcję -66%, a następnie stopniową adsorpcję -87% do 60 minut, drugi kompozyt, RF-520PT36-850, z największą pulą McLR związany w ciągu pierwszych 15 sekund - 86% i zaadsorbowany do 90-99% od 10 minuty, ale tylko 50-60% zostało zaadsorbowane z Atx-a przez oba kompozyty. Woda MilliQ nie desorbowała McLR z kompozytów, ale metanol pozwolił na desorpcję do 29% McLR związanego z kompozytem. Kompozyty te są obiecujące w fotokatalityczno-chemicznej remediacji cyjanotoksyn, a dalsze badania z różnymi cyjanotoksynami pozwolą na porównanie, w jaki sposób można osiągnąć tę remediację.

Podziękowania:

Dziękujemy prof. dr hab. Piotrowi Kuśtrowskiemu i Katedrze Technologii Chemicznej Wydziału Chemicznego Uniwersytetu Jagiellońskiego za współpracę w realizacji niniejszej pracy badawczej

WERYFIKACJA INDIKACYJNEGO POTENCJAŁU HILDENBRANDII RZECZNEJ

A.S. Rybak¹, A.M. Woyda-Płoszczyca²

¹Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Instytut Biologii Środowiska, Zakład Hydrobiologii, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań

²Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Zakład Bioenergetyki, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań

Autor korespondencyjny: rybakandrzej@interia.eu

Hildenbrandia rzeczna (*Hildenbrandia rivularis*) to słodkowodny gatunek krasnorosta, charakteryzujący się płaską i skorupiastą plechą o czerwonym zabarwieniu [1]. Glon ten jest podwodnym epilitem, który najczęściej porasta kamienie oraz inne elementy dna, w tym te naturalne (np. muszle) a także antropogenicznego pochodzenia (np. cegły). Hildenbrandia znajduje się na czerwonej liście glonów Polski (status „V” – narażona na wymarcie) a od 2004 roku objęta jest ochroną gatunkową w naszym kraju [2]. Do 1944 roku krasnorost ten występował zaledwie w kilkunastu stanowiskach w Polsce [4–6], dlatego nawet dziś często panuje przekonanie, że hildenbrandia jest rzadka w środowisku i związana tylko z czystymi oraz dobrze natlenionymi wodami o małej zawartości biogenów [3]. Jednak obecnie glon ten jest u nas pospolity i znany z ponad 300 stanowisk, a przeważnie zasiedla systemy antropogeniczne z optimum w wodach płytkich o wartkim nurcie, ale alkalicznych i silnie zmineralizowanych [7,8]. Ponadto, z bieżących analiz danych biogeograficznych wynika, iż krasnorost ten występuje w całym spektrum trofii, choć m.in. w makrofitowej metodzie oceny rzek jest bioindykatorem wód mezotroficznych [9]. Tym samym dalsza zasadność wykorzystania tego gatunku (ze względu na charakterystyczny wygląd i przez to łatwość w identyfikacji) jako bioindykatora wód czystych jest bezzasadna. Błędne jest również przekonanie o narażeniu tego gatunku na wyginięcie. Podobna tendencja ekspansji hildenbrandii dotyczy całej Europy, co zapewne wynika ze zwiększonego zakresu tolerancji tego krasnorosta w stosunku do kluczowych parametrów fizykochemicznych [7]. W celu wyjaśnienia mechanizmów tej adaptacji, przedmiotem Naszych badań jest efektywność metabolizmu tlenowego (kluczowego dla rozwoju wielu gatunków glonów) w warunkach stresu środowiskowego.

Bibliografia:

- [1] Guiry MD, Guiry GM (2023) Algaebase, World-Wide Electronic Publication, National University of Ireland, Galway.
- [2] Siemińska J et al. (2006) A Red list of the algae in Poland, Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN, Kraków.
- [3] Krawiec F (1935) Interesting red algae *Hildenbrandia rivularis* (Liebm.) J.G. Ag. and *Thorea ramosissima* Bory in Wielkopolska. Acta Soc Bot Pol 12: 299-300.
- [4] Starmach K (1969) *Hildenbrandia rivularis* and associating it algae in the stream Cedronka near Wejherowo (Gdańsk voivode). Fragm Florist Geobot Pol 15: 387-398.
- [5] Żelazna-Wieczorek J, Ziulkiewicz M (2008) *Hildenbrandia rivularis* (Rhodophyta) in central Poland. Acta Soc Bot Pol 77: 41-47.
- [6] Eloranta P, Kwandrans J (2004) Indicator value of freshwater red algae in running waters for water quality assessment. Oceanol Hydrobiol Stud 33: 47-54.
- [7] Jakubas-Krzak E et al. (2023) The red alga *Hildenbrandia rivularis* is a weak indicator of the good ecological status of riverine habitats. Ecol Indic. 147:109918.

[8] Jakubas E et al. (2014) Factors determining the distribution of reophil and protected *Hildenbrandia rivularis* (Liebmann) J. Agardh 1851, the Rhodophyta freshwater species, in lowland river ecosystems. Pol J Ecol 62: 679-693.

[9] Szoszkiewicz K et al. (2010) Macrophyte development in unimpacted lowland rivers in Poland. Hydrobiologia 656: 117-131.





MATERIAŁY OD SPONSORÓW

LKB BIOTECH

al. Bohaterów Września 9 lok.115
02-389 Warszawa
www.lkb-biotech.pl

- Złoża chromatograficzne wykonane z sieciowanej agarozy, przeznaczone do separacji biomolekuł z wykorzystaniem różnych technik chromatografii ciekowej.
- Zestawy do ekstrakcji i oczyszczania DNA/RNA
- Substraty chemiluminescencyjne do Western blottingu (dwa komponenty)
- Substraty chemiluminescencyjne do Western blottingu (jeden component)
- Substraty chemiluminescencyjne do testów immunochemiluminescencyjnych lub immunoenzymatycznych opartych na peroksydazie chrzanowej (HRP)
- Amino-reaktywne znaczniki fluorescencyjne
- Znaczniki żywotności komórek w cytometrii przepływowej
- Zestawy do ilościowego oznaczania białek metodą BCA
- Kompleksy z rutenem do testów polaryzacji i czasu życia fluorescencji
- Reagenty do kowalencyjnego wiązania lub sieciowania biomolekuł
- Zestawy do multipleksowego fluorescencyjnego znakowania białek (technika 2D oraz 2D DIGE)
- Zestawy do analizy białek różniących się potencjałem REDOX



KOMPLEKSOWA OFERTA DLA OCENY EKOTOKSYKOLOGICZNEJ

EKOTOKSYKOLOGIA:

- * pakiety **TOXKIT** (PROTOXKIT F, ROTOXKIT F, ROTOXKIT F short-chronic, THAMNOTOXKIT F, DAPHTOXKIT F magna, CERIODAPHTOXKIT F, ALGALTOXKIT F, RAPIDTOXKIT F, OSTRACODTOXKIT F, PHYTOTOXKIT, PHYTOTESTKIT, SPIRODELA DUCKWEED TOXKIT, ROTOXKIT M, ARTOXKIT M, ALGALTOXKIT M)
- * system **BioToxy / Microtox**
- * system **MARA** (ocena ryzyka ekotoksykologicznego)

MUTAGENNOŚĆ:

- * testy **AMES MPF**
w postaci mikroplótkowej
- * testy **MicroAmes** i **MacroAmes**
na plótkach z agarem

GENOTOKSYCZNOŚĆ:

- * testy **UmuC Easy**
w postaci mikroplótkowej

OCENA AKTYWNOŚCI HORMONALNEJ:

- * testy **XL YES/YAS**
w postaci mikroplótkowej

OCENA SUMY ŻYWEJ BIOMASY:

- * metoda **ATP**

SPRZĘT I AKCESORIA qPCR:

- * analizatory qPCR,
- * systemy do automatycznej ekstrakcji DNA / RNA
- * pakiety do konserwacji próbek
- * pakiety do oczyszczania próbek
- * pakiety testowe dla: - suma prokariotów, - suma bakterii, - suma archeonów,
- prokarioty redukujące siarczan, - bakterie redukujące żelazo,
- suma metanogenów, - metanogeny wywołujące korozję, - suma grzybów,
- bakterie utleniające siarkę, - *Legionella* spp., - *Legionella pneumophila*

**ŚWIATOWE STANDARDY; ZGODNOŚĆ Z NORMAMI; REFERENCJE;
WALIDACJE; OBSŁUGA POSPRZEDAŻNA; KONSULTACJE; USŁUGI**

TIGRET Sp. z o.o., Ul. Warszawska 27, 02-495 Warszawa, Polska
Tel. 22 8670528

tigret@tigret.eu

www.tigret.eu