



**PATRONAT
HONOROWY**



PREZYDENT MIASTA LUBLIN
KRZYSZTOF ŻUK

**IV OGÓLNOPOLSKIE SYMPOZJUM
MIKROBIOLOGICZNE
„METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK”**

ABSTRAKTY



UMCS

UNIwersytet Marii Curie-Skłodowskiej



**INSTYTUT
AGROFIZYKI
P A N**



WYDZIAŁ
BIOTECHNOLOGII
I NAUK O ŚRODOWISKU | **KUL**



**SZKOŁA GŁÓWNA
GOSPODARSTWA
WIEJSKIEGO
W WARSZAWIE**

Lublin, 27–28 czerwca 2019 roku

IV OGÓLNOPOLSKIE SYMPOZJUM MIKROBIOLOGICZNE „METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK”

Abstrakty



UMCS
UNIwersytet Marii Curie-Skłodowskiej



SZKOŁA GŁÓWNA
GOSPODARSTWA
WIEJSKIEGO
W WARSZAWIE

Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydawnictwo POLIHYMNIA

Lublin, 27 - 28 czerwca 2019

Redakcja

dr hab. Małgorzata Majewska
mgr Artur Nowak

Wydawca

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

ISBN 978-83-7847-608-5



Druk, oprawa:

Wydawnictwo POLIHYMNIA Sp. z o.o.

20-832 Lublin, ul. Deszczowa 19

tel./fax (81) 746-97-17

e-mail: poczta@polihymnia.pl

www.polihymnia.pl

www.ebookipolihymnia.pl

**IV OGÓLNOPOLSKIE SYMPOZJUM
MIKROBIOLOGICZNE
„METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK”**

Lublin, 27 - 28 czerwca 2019

Organizatorzy

Zakład Mikrobiologii Środowiskowej
Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii,
Wydział Biologii i Biotechnologii,
Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej

Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina,
Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk
w Lublinie

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

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

Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

KOMITET NAUKOWY:

Przewodniczący:

prof. dr hab. Adam Jaworski, Społeczna Akademia Nauk, Łódź

Członkowie:

prof. dr hab. Wiesław Barabasz, PWSW Przemyśl

prof. dr hab. Mieczysław Kazimierz Błaszczyk, SGGW Warszawa

dr hab. inż. Maria Chmiel, UR Kraków

prof. dr hab. Adam Choma, UMCS Lublin

dr hab. inż. Sławomir Ciesielski, prof. nadzw., UWM Olsztyn

prof. dr hab. inż. Krystyna Cybulska, ZUT Szczecin

dr inż. Anna Gajda, IUNG-PIB Puławy

dr hab. Patrycja Golińska, UMK Toruń

prof. dr hab. Katarzyna Hrynkiewicz, UMK Toruń

dr hab. Monika Janczarek, prof. nadzw., UMCS Lublin

prof. dr hab. Małgorzata Jędrzycka, PAN Poznań

prof. dr hab. Jacek Kozdrój, UR Rzeszów

dr hab. Ewa Król, prof. nadzw., UP Lublin

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-PIB Puławy

dr hab. Andrzej Mazur, prof. nadzw., UMCS Lublin

dr Karolina Oszust, PAN Lublin

dr Jacek Panek, PAN Lublin

prof. dr hab. Stanisław Pietr, UP Wrocław

dr Anna Pytlak, KUL Lublin

prof. dr hab. Zofia Piotrowska-Seget, UŚ Katowice

dr hab. Anna Sikora, PAN Warszawa

prof. dr hab. Anna Skorupska, UMCS Lublin

dr Anna Szafranek-Nakonieczna, KUL Lublin

prof. dr hab. Jadwiga Wyszowska, UWM Olsztyn

KOMITET ORGANIZACYJNY:

Przewodnicząca:

dr hab. Jolanta Jaroszuk-Ścisel, prof. nadzw. (UMCS, Lublin)

Członkowie:

prof. dr hab. Magdalena Frąc (IA PAN, Lublin)

dr hab. Anna Gałązka, prof. nadzw. (IUNG-PIB, Puławy)

dr Agata Goryluk-Salmonowicz (SGGW, Warszawa),

dr hab. Agnieszka Wolińska (KUL, Lublin)

Sekretariat konferencji:

dr hab. Małgorzata Majewska

mgr Artur Nowak

dr Ewa Ozimek

mgr Anna Słomka

mgr Renata Tyśkiewicz

PATRONAT HONOROWY:

dr Krzysztof Żuk
Prezydent Miasta Lublin

prof. dr hab. Stanisław Michałowski
Jego Magnificencja Rektor UMCS, Lublin

prof. dr hab. Kazimierz Trębacz
Dziekan Wydziału Biologii i Biotechnologii, UMCS, Lublin

prof. dr hab. Wiesław Oleszek
Dyrektor IUNG-PIB, Puławy

prof. dr hab. Cezary Sławiński
Dyrektor IA PAN, Lublin

prof. dr hab. Ryszard Szyszka
Dziekan Wydziału Biotechnologii i Nauk o Środowisku KUL, Lublin

prof. dr hab. Zdzisław Wszyński
Dziekan Wydziału Rolnictwa i Biologii, SGGW, Warszawa

PATRONAT NAUKOWY:

Polskie Towarzystwo Fitopatologiczne

Polskie Towarzystwo Genetyczne

Polskie Towarzystwo Mikrobiologów

Polskie Towarzystwo Mykologiczne

WYKŁADY PLENARNE WYGŁOSZA:

prof. dr hab. Adam Jaworski

Spółeczna Akademia Nauk w Łodzi, emerytowany profesor zw. Uniwersytetu
Łódzkiego

prof. dr hab. Mieczysław Kazimierz Błaszczyk

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa

prof. dr hab. Wiesław Barabasz

Państwowa Wyższa Szkoła Wschodnioeuropejska, Przemyśl

prof. dr hab. Adam Choma

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

prof. dr hab. Małgorzata Jędrzycka,

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Poznań

dr hab. Sławomir Ciesielski, prof. nadzw. UWM

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

dr hab. Andrzej Mazur, prof. nadzw. UMCS

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

prof. dr hab. Joanna Puławska

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

Spis treści

WYKŁADY PLENARNE

Kontrowersje wokół systematyki grzybów.....	2
Mikroorganizmy „workhorse” w środowiskach naturalnych.....	4
Dystrybucja długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (typu VLCFA) i genów kodujących ich biosyntezę w domenie <i>Bacteria</i>	5
Masowe sekwencjonowanie amplikonów 16S rRNA - nowe możliwości i stare problemy	6
CRISPR/Cas9 - rewolucyjna metoda edycji genów i genomów (nadzieje, obawy, dylematy i zagrożenia)	8
Z impetem wgląd: mikrobiom gleb rolniczych	11
Precyzyjna kontrola replikacji jako kluczowy element stabilności wieloreplikonowych genomów bakteryjnych	12
Analizy metagenomiczne w badaniach nad bakteriami i wirusami patogenicznymi dla roślin	13

REFERATY

Zastosowanie metod klasycznych i metagenomicznych w badaniach populacyjnych bakterii z rodzaju <i>Bradyrhizobium</i>	16
Metataksonomia - w poszukiwaniu mikrobiologicznej "ciemnej materii"	17
Różnorodność zbiorowiska grzybów zasiedlających pniaki czeremchy amerykańskiej (<i>Prunus serotina</i> EHRH)	18
Strukturalna różnorodność metagenomu bioaerolowego	19
Zróznicowanie mikrobiomu jelitowego u mutantu świerszcza domowego z zaburzonym metabolizmem tryptofanu.....	20
Zmienność mikrobiomu endofitycznego w odmianach pszenicy jarej.....	21
Zróznicowanie fenotypowe i genetyczne mikroorganizmów wyizolowanych z brodawek korzeniowych <i>Trifolium rubens</i>	22
Zróznicowanie genomowe mikrospołeczności ryzosferowej i endofitycznej koniczyny białej zasiedlającej hałdę Zn-Pb w południowej Polsce	23
Zastosowanie metagenomiki w fitopatologii na przykładzie <i>Armillaria ostoyae</i> (Romagn) Herink	24
Wykorzystanie pożytecznych mikroorganizmów w praktyce ogrodniczej.....	25
Warunki glebowe i analizy metagenomiczne	26
Delecje dużych fragmentów genomu jako metoda funkcjonalnej analizy szlaku biosyntezy egzopolisacharydu <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i>	28

POSTERY

NOWOCZESNE METODY STOSOWANE W BADANIACH EKOLOGII MIKROORGANIZMÓW

Wpływ sposobu produkcji sadzonek sosny zwyczajnej (<i>Pinus sylvestris</i> L.) na zbiorowiska grzybów korzeni drobnych	32
Wpływ działania nanosrebra na żywotność drożdży z rodzaju <i>Candida</i>	34
Wpływ warunków środowiskowych na strukturę mikrobiomu przewodu pokarmowego lina (<i>Tinca tinca</i> L.)	35
Porównanie identyfikacji wybranych szczepów bakterii w oparciu o technikę MALDI-TOF MS i metody biochemiczne	37
Ocena wpływu wieloletniego stosowania bezorkowego systemu uprawy roli na zmiany wybranych parametrów jakości gleby.....	38
Wpływ dodatku sulfonianu-2-bromoetanu na beztlenowy metabolizm społeczności mikroorganizmów	39
Zróznicowanie genetyczne szczepów <i>Escherichia coli</i> wyizolowanych od krów z objawami mastitis.....	40
Identyfikacja i charakterystyka funkcjonalna galaktozylotransferazy PssJ zaangażowanej w biosyntezę egzopolisacharydu <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i>	41
Glikozylotransferazy zaangażowane w biosyntezę egzopolisacharydu <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> : lokalizacja komórkowa i mapa oddziaływań	42
Przynależność gatunkowa i aktywność metaboliczna szczepów <i>Mortierella antarctica</i>	43
Wpływ światła na szlaki sygnałowe <i>Cerrena unicolor</i>	44
Wpływ światła na syntezę proteaz z <i>Cerrena unicolor</i> w hodowli na podłożu z trocin jesionowych.....	45
Sekretom <i>Cerrena unicolor</i> jako źródło enzymów o potencjale biotechnologicznym.....	47
Produkty reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę celobiozową jako efektywne czynniki antyoksydacyjne i przeciwdrobnoustrojowe	48
Analiza porównawcza składu kwasów tłuszczowych w zarodnikach dwudomowego gatunku <i>Gymnosporangium sabinae</i>	49
Selekcja szczepów bakterii endofitycznych roślin uprawnych i chwastów w kierunku produkcji deaminazy ACC z wykorzystaniem metody molekularnej i klasycznej techniki płytek agarowych	50
Charakterystyka mykobionu ryzosfery i endosfery szybkorosnących drzew <i>Paulownia elongata</i> x <i>Paulownia fortunei</i>	51
Różnorodność fenotypowa mutantów delecyjnych w genach glikozylotransferaz odpowiedzialnych za biosyntezę egzopolisacharydu <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> TA1	52

Konstrukcja mutanta w genie *pssV* kodującym hipotetyczny element szlaku transmisji sygnałów w *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* 53

METAGENOMIKA W MIKROBIOLOGII ŚRODOWISKOWEJ

Różnorodność bakterii w glebie z dodatkiem tebukonazolu	56
Zmienność mikrobiomu <i>Azolla filiculoides</i> L. w warunkach stresu metalami ciężkimi	57
Identyfikacja molekularna bakterii z rodzaju <i>Listeria</i> w środowisku produkcyjnym żywności	58
Znaczenie i skład taksonomiczny Basidiomycota w glebie piaszczystej nawożonej podłożem popieczarkowym	59
Struktura społeczności bakterii w wodach Wisły	60
Zmiany w społeczności mikroorganizmów glebowych wywołane zastojem wody .	61
Zmiany aktywności i różnorodności drobnoustrojów w glebie oraz stabilności gleby w różnych systemach produkcji roślinnej.....	62
Analiza metagenomiczna w badaniach społeczności mikroorganizmów zasiedlających wnętrza roślin.....	63
Wykorzystanie analizy polimorfizmu długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych typu multiplex w określeniu różnorodności genetycznej bakterii, grzybów oraz archeonów glebowych	64
Charakterystyka fenotypowa izolatu bakteryjnego ze Spitsbergenu	65
Analiza regionu odpowiedzialnego za syntezę długołańcuchowych (ω -1)-hydroksykwasów tłuszczowych w genomach <i>Agrobacterium</i> spp.	66
Wykorzystanie preparatów organicznych do poprawy parametrów mikrobiologicznych i fizycznych gleby w intensywnej uprawie cebuli	67
Struktura mikrobiomu węgla brunatnego w świetle warunków depozycji	68
Porównanie częstości występowania genów oporności na tetracykliny z fenotypem oporności wśród szczepów <i>Aeromonas</i> sp. izolowanych od ryb	69
Analiza regionu kodującego syntezę długołańcuchowych (ω -1) –hydroksykwasów tłuszczowych w genomach <i>Methylobacterium</i> spp	70
Zmęczenie gleby jako efekt występowanie grzybów toksynotwórczych w glebach uprawnych	71
Stymulacja metanogenezy w węglach kamiennych z wykorzystaniem społeczności mikroorganizmów wyizolowanych z osadów organicznych.....	73
Bioróżnorodność i potencjał biotechnologiczny mikrobiomu zbiornika zapadliskowego „Szczecin”	74
Identyfikacja fenotypowa oraz genotypowa dwóch szczepów grzybów <i>Trichoderma</i> spp. na podstawie porównania profili fizjologicznych w teście Biolog FF oraz sekwencji regionów ITS	75

Zróźnicowanie ryzosferowych mykopasożytniczych szczepów grzybów <i>Trichoderma</i> spp. pod względem syntezy fitohormonu IAA	76
Charakterystyka szczepu OA139 – filogeneza i taksonomia	78
Ocena środowiskowych efektów stosowania różnego rodzaju środków wapnujących w uprawie żyta ozimego	79
Ocena środowiskowych efektów stosowania różnego rodzaju środków wapnujących w uprawie pszenżyta ozimego	80
Zróźnicowanie genetyczne endofitów szczodrzeńca zmiennego pochodzących z różnych środowisk	81
Zmienność mikrobiomu endofitycznego w odmianach pszenicy ozimej	82
Metagenomiczne rozpoznanie struktury Actinobacteria w glebach rolniczych i nieuprawianych Lubelszczyzny	83
Metagenomy strefy ryzosferowej różnych odmian pszenicy zwyczajnej (<i>Triticum aestivum</i> L.)	85
Struktura zbiorowisk bakterii w glebie zanieczyszczonej BPF	86

METAGENOMIKA APLIKACYJNA

Bakterie i grzyby w lekkiej i kwaśnej glebie: studium przypadku w województwie wielkopolskim	88
Identyfikacja i analiza molekularna genu oraz regionu promotorowego FAD-zależnej dehydrogenazy glukozyjowej <i>Aspergillus terreus</i> F 413	89
Identyfikacja gatunków z rodzaju <i>Fusarium</i> w ekologicznej uprawie kukurydzy ..	90
Porażenie odmian owsa zwyczajnego i nagoziarnistego przez patogeny grzybowe w systemie produkcji ekologicznej	91
Wpływ izolatu bakteryjnego na wzrost i wybrane parametry biochemiczne <i>Phaseolus coccineus</i> L.	92
Ocena różnorodności grzybów w glebie ryzosferowej roślin pomidora i ogórka traktowanych bionawozami	93
Przegląd preparatów mikrobiologicznych do ochrony truskawki w ekologicznym systemie produkcji	94
Analiza FTIR jako narzędzie wykazujące zróźnicowanie egzopolimerów (EPS) grzybów Ascomycota należących do rodzajów <i>Fusarium</i> , <i>Trichoderma</i> i <i>Penicillium</i>	95
Aktywność markerów odporności roślin indukowana trzema frakcjami polimerów (WPS, IPS, EPS) pochodzącymi od szczepu <i>Trichoderma koningiopsis</i> (DEMTkZ3A0)	96
Identyfikacja gatunków grzybów izolowanych z korzeni siewek oraz kwitnących roślin soi – porównanie dwóch faz rozwojowych	97
Porównanie wybranych metod izolacji DNA z gleby w badaniach metataksonomicznych	99

Mikrobiom glebowy towarzyszący kile kapusty na rzepaku: studium dwóch przypadków z północno-wschodniej Polski	100
Metagenomowa analiza mikrobiomu jelitowego larw guniaka czerwczyka (<i>Amphimallon solstitiale</i> L.) pod kątem interakcji z symbiotycznymi bakteriami nicieni entomopatogenicznych	101

METAGENOMIKA A JAKOŚĆ ŚRODOWISKA (rolnictwo i analiza gleb)

Skuteczność lamp LED – biobójczych w zbiorniku wodnym aparatu medycznego	104
Próba detekcji głównych grup eukariontów glebowych związanych z rozkładem celulozy z wykorzystaniem multipleks PCR i sekwencjonowania nowej generacji	105
Porównanie oddziaływania wybranych syntetycznych surfaktantów na aktywność fosfataz i dehydrogenaz w glebie zanieczyszczonej benzyną.....	106
Ocena oddziaływania flurbiprofenu na aktywność fosfataz w glebie	107
Wpływ biowęglu na zmianę bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikroorganizmów glebowych w uprawie zbóż	108
Bioróżnorodność strukturalna i funkcjonalna gleb w zależności od systemu uprawy pszenicy ozimej	109
Zdolności adaptacyjne mikrosymbiontów koniczyny łąkowej do warunków glebowych	110
Występowanie genów lekooporności i przeżywalność bakterii w sztucznym śniegu w wybranych stacjach narciarskich	111
Wpływ czynników środowiskowych na wzrost i przeżywalność szczepu dzikiego <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> i mutantów defektywnych w syntezie EPS.....	112
Tolerancja stresu kadmowego oraz tworzenie biofilmu przez szczepy bakteryjne wyizolowane z gleb Spitsbergenu.....	113
Relacje między szczepami bakteryjnymi jako istotny czynnik w konstruowaniu konsorcjum stymulującego wzrost roślin w warunkach stresu kadmowego	114
Zdolność wiązania kationów metali ciężkich (Cd, Zn, Pb) przez EPS szczepów: <i>Fusarium</i> , <i>Trichoderma</i> i <i>Penicillium</i> określana metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA)	115
Skład taksonomiczny zbiorowisk bakterii zasiedlających organiczną warstwę gleby pod rdestowcem ostrokończystym (<i>Reynoutria japonica</i>)	116
Ocena aktywności enzymatycznej i metabolicznej gleb spod roślin spontanicznie zasiedlających składowiska odpadów popłotacyjnych i żużlowych.....	117
Wpływ suszy i intensywnej zmian wilgotności gleb na aktywność metaboliczną oraz skład populacji bakterii.....	118
Ocena możliwości wykorzystania zmian aktywności fosfataz glebowych jako indikatora oddziaływania wybranych cieczy jonowych na środowisko glebowe	119

<i>MATERIAŁY INFORMACYJNE SPONSORÓW</i>	117
<i>INDEKS AUTORÓW</i>	123



Wykłady Plenarne



Kontrowersje wokół systematyki grzybów

Wiesław Barabasz, Anna Pikulicka

East European State Higher School in Przemyśl

W ciągu kilku ostatnich lat dokonana się (i wciąż dokonuje) rewolucja w systematyce filogenetycznej, zupełnie zmieniająca klasyfikację kladystyczną organizmów żywych. Dla wszystkich tych, którzy przywykli do pięciu królestw organizmów żywych (tzw. Five Kingdom Classification System) rezygnacja z tradycyjnego, zainicjowanego jeszcze przez Arystotelesa, podziału świata istot żywych na rośliny, grzyby, zwierzęta, protisty i prokarioty jest wręcz przewrotem kladystycznym. Proponowane obecnie zmiany w systemie klasyfikacji filogenetycznej oparte są na wynikach kompleksowych badań molekularnych, pozwalających na odtworzenie prawdziwych relacji filogenetycznych pomiędzy taksonami najwyższych rang. Do tej pory opisano ok. 100 tysięcy gatunków grzybów, ale brak jednolitych kryteriów nie pozwala na dokładny szacunek, w efekcie ta liczba może być wyższa. Systematyka grzybów, jak wszystkich grup organizmów, ulega przekształceniom w miarę uzyskiwania nowych informacji dotyczących ich filogenezy

i pokrewieństwa. Początkowo systematyka opierała się na danych morfologicznych i anatomicznych. Skutkowało to podziałem na nie do końca formalne grupy grzybów wyższych i grzybów niższych. Przed rozwinięciem metod filogenetyki molekularnej systematyka grzybów nastroczała trudności wynikających z biologii przedstawicieli tej grupy odmiennej od biologii typowych roślin i zwierząt. U wielu grzybów nieznanne są procesy płciowe, których zróżnicowanie jest często podstawą klasyfikacji taksonomicznej, a budowa jest mało skomplikowana (pleśń lub postać przypominająca drożdże). W związku z tym te grzyby, których pokrewieństwa z innymi grupami nie dało się ustalić, zaliczano do sztucznego taksonu "grzyby niedoskonałe". Na przełomie XX

i XXI w. zaczęły się pojawiać nowe systematyki grzybów, a do liczących się należą:

1. Klasyfikacja opublikowana w 1998 w publikacji "*A revised six-kingdom system of life*„, przez Thomasa Cavaliera-Smitha przedstawia podział królestwa grzybów na 2 podkrólestwa.
2. Arthur Schüßler w klasyfikacji zaproponowanej w pracy "*A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution*" (2001) podzielił królestwo grzybów na 4 gromady.
3. W 9 edycji "*Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*" z 2001 Paul Kirk podzielił królestwo grzybów na 4 gromady.
4. W 2007 zaproponowano w pracy pod redakcją Davida Hibbetta: "*A higher level phylogenetic classification of the Fungi*", podział systematyczny królestwa *Fungi* oparty na komórkowych badaniach filogenetycznych. Największe zmiany dotyczą gromad sprzężniowców (*Zygomycota*) i skoczkwowców (*Chytridiomycota*).
5. Edycja *Catalogue of Life* z 2009 „*Annual Check list*” przedstawia klasyfikację systematyczną grzybów, z podstawowym podziałem na 8 gromad.
6. W najnowszym „Systemie Adla 2012”, zawartym w artykule „*The Revised Classification of Eukaryotes*”, grzyby zaliczane są do supergrupy Opisthokonta.

Controversy around fungal systemics

Over the past few years, a (and still is) a revolution in phylogenetic systematics has taken place, completely changing the cladistic classification of living organisms. For all those who are accustomed to the five kingdoms of living organisms (the so-called Five Kingdom Classification System), the resignation of the traditional, still initiated by Aristotle, division of the world of living beings into plants, fungi, animals, protists and prokaryotes is even a clad coup. The changes currently proposed in the phylogenetic classification system are based on the results of comprehensive molecular research, allowing the reproduction of true phylogenetic relationships between the highest ranking taxa. So far, about 100,000 species of mushrooms have been described, but the lack of uniform criteria does not allow for accurate estimation, as a result this number may be higher. The systematics of fungi, like all groups of organisms, is being transformed as new information about their phylogenesis and kinship is obtained. Initially, systematics was based on morphological and anatomical data. This resulted in the division into not entirely formal groups of higher fungi and lower fungi. Before developing the methods of molecular phylogenetics, the systematics of fungi posed difficulties resulting from the biology of representatives of this group different from the biology of typical plants and animals. In many fungi, sexual processes are unknown, the diversity of which is often the basis of taxonomic classification, and the construction is not very complicated (mold or a yeast-like form). Therefore, these mushrooms, whose kinship with other groups could not be determined, included "imperfect mushrooms" in the artificial taxon. At the turn of the 20th and 21st centuries, new systematics of fungi began to appear, and the major ones include:

1. The classification published in 1998 in the publication "A revised six-kingdom system of life" by Thomas Cavalier-Smith presents the division of the mushroom kingdom into two sub-kingdoms.
2. Arthur Schüßler in the classification proposed in the paper "A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution" (2001) divided the kingdom of fungi into 4 clusters.
3. In the 9th edition of "Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi" from 2001, Paul Kirk divided the kingdom of mushrooms into four clusters.
4. In 2007, it was proposed in the work edited by David Hibbett: "A higher level phylogenetic classification of the Fungi", a systematic division of the Fungi kingdom based on phylogenetic cellular research. The biggest changes concern the clusters of Zygomycota and Chytridiomycota.
5. Edition of the Catalog of Life from 2009 "Annual Check List" presents a systematic classification of fungi, with the basic division into 8 clusters.
6. In the latest "Adla 2012 System" included in the article "The Revised Classification of Eukaryotes", mushrooms belong to the Opisthokont supergroup.

Mikroorganizmy „workhorse” w środowiskach naturalnych

Mieczysław K. Błaszczyk

W istocie nazwa „*workhorse microorganisms*” dotyczy bakterii, drożdży i grzybów strzępkowych, których szczepy są zdolne do nadprodukcji enzymów i metabolitów. Wykorzystywane są od dziesiątków lat w mikrobiologii przemysłowej do pozyskiwania wielu enzymów i licznych metabolitów. Wśród bakterii najbardziej wszechstronnym organizmem „*workhorse*” jest *Escherichia coli*. Wśród drożdży dominantem jest *Saccharomyces cerevisiae* a z grzybów strzępkowych *Aspergillus niger*. Jeśli spojrzymy na częstość pojawiania się nazwy mikroorganizmu (PubMed) w tytule publikacji oraz we wszystkich publikacjach, to bezwzględny dominantem jest *Escherichia coli* w 103081/366897 odsłon (lata 1932–2019). Kolejny subdominant *Saccharomyces cerevisiae* 27341/123670 razy (1919–2019). Wśród grzybów strzępkowych bezwzględny dominantem jest *Aspergillus niger* odpowiednio 3162/9245 (lata 1918–2019).

W naturalnych środowiskach także istnieją gatunki bakterii i grzybów, które pełnią bardzo ważne i określone funkcje, zwłaszcza w silnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi oraz ropopochodnymi i ksenobiotykami, a nawet odpadami promieniotwórczymi. One to zasiedlając te środowiska prowadzą różne procesy zmierzające do usunięcia tych zanieczyszczeń lub transformacji do nietoksycznych. Jest to naturalna bioremediacja. Jednym z nich jest *Cupriavidus metallidurans* dawniej nazywany jak *Ralstonia metallidurans* > *Ralstonia eutropha* > *Alcaligenes eutrophus*). Jak do tej pory w tytułach publikacji ich nazwa pojawia się 824 razy a 3125 jest wspominana w różnych publikacjach.

W mikrobiologii środowiskowej można znaleźć dziesiątki gatunków, które pełnią bardzo ważną rolę w środowisku. Nie ma jednak ukutego takiego pojęcia jak „*workhorse*” gatunki. Mówi się o szczepach wyspecjalizowanych lub uniwersalnych. Wyspecjalizowane bakterie biorą udział w krążeniu niektórych pierwiastków jak azotu, siarki i żelaza. W obiegu węgla także biorą udział wyspecjalizowane gatunki. Obok nich istnieją szczepy uniwersalne, które uczestniczą w degradacji różnych substancji typu ksenobiotyki, prowadzących unieruchamianie metali ciężkich. Ta właściwość pojawia się na skutek horyzontalnego transferu genów lub aranżacji nowych szlaków metabolicznych.

Dystrybucja długłańcuchowych kwasów tłuszczowych (typu VLCFA) i genów kodujących ich biosyntezę w domenie *Bacteria*

Adam Choma, Iwona Komaniecka, Andrzej Mazur, Kamil Żebracki

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

Odkryte w 1991 roku kwasy tłuszczowe o bardzo długim łańcuchu węglowodorowym (VLCFA) będące składnikami lipopolisacharydów alfaproteobakterii zostały początkowo uznane za ciekawy marker chemotaksonomiczny tych bakterii. Dalsze badania (prowadzone głównie na bakteriach symbiotycznych) doprowadziły do określenia ich znaczenia w życiu bakterii oraz do identyfikacji genów kodujących enzymy odpowiedzialne za biosyntezę tych kwasów. W dotychczas przeanalizowanych genomach geny biosyntezy VLCFA tworzą skupisko o stosunkowo konserwatywnym układzie. Jest ono z jednej strony oflankowane przez gen dla specyficznego białkowego nośnika grup acylowych (*acpXL*), a z drugiej genem kodującym acylotransferazę właściwą dla tych kwasów (*msbB = lpxXL*).

Podjęto próbę analizy oraz porównania homologicznych regionów kodujących biosyntezę VLCFA zidentyfikowanych u różnych bakterii. Przebadano również rozpowszechnienie tych sekwencji w obrębie domeny *Bacteria*.

Distribution of very long-chain fatty acids (VLCFA) and genes encoding their biosynthesis pathway in the domain *Bacteria*

The fatty acids with a very long hydrocarbon chain (VLCFA) discovered in 1991, which are components of alfaproteobacteria lipopolysaccharides, were initially recognized as an interesting chemotaxonomic marker of these bacteria. Further research (mainly carried out on symbiotic bacteria) led to the determination of their importance in the life of bacteria and to the identification of genes coding for enzymes responsible for the biosynthesis of these fatty acids. The VLCFA biosynthesis genes form clusters of relatively conserved arrangement in the genomes analyzed till now. Such regions are usually flanked on one side by the gene coding for specific protein carrier of acyl groups (*acpXL*), and on the other side by the gene of an acyltransferase specific for these acids (*msbB = lpxXL*).

An attempt was made to analyze the region encoding VLCFA biosynthesis and to compare homologous regions identified in various bacteria. The dissemination of these sequences within the *Bacteria* domain was also tested.

Masowe sekwencjonowanie ampikonów 16S rRNA - nowe możliwości i stare problemy

Sławomir Ciesielski

Katedra Biotechnologii w Ochronie Środowiska, Wydział Nauk o Środowisku, Uniwersytet
Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Obecny rozwój technik masowego sekwencjonowania DNA przyczynił się do istotnego wzrostu wiedzy o mikroorganizmach bytujących zarówno w środowiskach naturalnych jak i antropogenicznych. Szczególnie analiza ampikonów genu kodującego 16S rRNA metodami sekwencjonowania drugiej generacji jest powszechnie wykorzystywaną metodą w badaniach konsorcjów mikroorganizmów. Metoda ta stosowana jest między innymi do charakterystyki taksonomicznej próbek środowiskowych, śledzenia dynamiki zmian zespołów mikroorganizmów, monitorowania procesów technologicznych przeprowadzanych przez konsorcja mikroorganizmów. Jednakże, słabością tej metody są błędy wynikające z reakcji amplifikacji i sekwencjonowania oraz możliwość analizowania jedynie fragmentów genu kodującego 16S rRNA. Dodatkowo, długość uzyskiwanych odczytów, przy zastosowaniu metod sekwencjonowania drugiej generacji nie przekracza kilkuset par zasad. Sprawia to, że próby identyfikacji mikroorganizmów w oparciu o analizę ampikonów 16S rRNA do poziomu gatunku a nawet rodzaju są bardzo ryzykowne. Metody sekwencjonowania trzeciej generacji częściowo eliminują wspomniane ograniczenia. Umożliwiają one uzyskiwanie znacznie dłuższych odczytów, pozwalających na poznanie struktury całego genu kodującego 16S rRNA. Mimo tej przewagi ich stosowanie nie rozwiązuje wszystkich problemów związanych z analizą ampikonów genu 16S rRNA.

W czasie wystąpienia zostaną przedstawione najnowsze podejścia badawcze stosowane do sekwencjonowania ampikonów, będą dyskutowane ich słabe i mocne strony oraz zostaną omówione główne problemy związane z analizą sekwencji 16S rRNA.

High-throughput sequencing of 16S rRNA gene amplicons - new possibilities and old problems

Recent development of high-throughput DNA sequencing has resulted in a considerably increase in knowledge of the microorganisms found in natural and anthropogenic environments. Especially, analysis of the 16S rRNA gene amplicons by second generation sequencing technologies is a commonly used method in the study of microbial consortia. This method is used, among others, for the taxonomic characterization of environmental samples, monitoring the dynamics of microbial communities changes, monitoring of technological processes carried out by undefined microbial cultures. However, the disadvantage of this method are errors arising during amplification and sequencing reactions and ability to analyze only fragments of 16S rRNA. Moreover, the length of reads, obtained by second generation sequencing methods, do not exceed several hundred base pairs. This makes that attempts to assign taxonomy based on 16S rRNA sequence to the level of the species and even the genera very risky. Third generation sequencing technologies partially overcome these limitations. They allow to obtain much longer reads, allowing to get to know the

structure of the entire 16S rRNA gene. Despite this advantage, their use does not solve all the problems associated with the analysis of 16S rRNA gene amplicons.

During the presentation, the latest research approaches used for amplicons sequencing, as well as their strengths and weaknesses will be discussed, also the main problems related to 16S rRNA sequence analysis will be presented.

CRISPR/Cas9 - rewolucyjna metoda edycji genów i genomów (nadzieje, obawy, dylematy i zagrożenia)

Adam Jaworski

Uniwersytet Łódzki i Społeczna Akademia Nauk

**„Najwyższym obowiązkiem moralnym naukowców jest zdobywać wiedzę
i wykorzystywać ją do możliwie najpełniejszego dobra ludzkości”**

James Watson

Bakteryjny system obrony przed infekcją fagami CRISPR/Cas (ang. *clustered regularly interspaced palindromic repeats*), odkryty w 1987 roku i funkcjonalnie scharakteryzowany w latach 2000 - 2007 w komórkach wielu rodzajów i gatunków bakterii, stał się podstawą dla skonstruowania w ostatnich 10 latach nowego, wciąż ulepszanego „narzędzia” genetycznego CRISPR/Cas9 dla edycji DNA, to jest ukierunkowanej, precyzyjnej inżynierii genetycznej i genomicznej bakterii, grzybów, roślin i zwierząt. Zostały stworzone techniczne możliwości dla stosunkowo łatwej, ukierunkowanej modyfikacji genomów wszystkich organizmów żywych, w tym ludzkich komórek somatycznych, a także germinalnych. Miarą ogólnoświatowego zainteresowania, a nawet fascynacji możliwościami, jakie zostały stworzone przez metodę edycji DNA przy zastosowaniu CRISPR/Cas9, jest liczba publikowanych prac w wiodących czasopismach naukowych świata. I tak, w 2012 roku w światowych czasopismach naukowych opublikowano zaledwie 126 artykułów na ten temat. Przełomowe prace zostały opublikowane w 2012 i 2013 w czasopiśmie *Science* przez Jennifer A. Doudna, Feng Zhang’a, George’a Church’a, Jin-Soo Kim’a, Luciano Marraffini’ego. W 2016 ukazało się 2155 publikacji na temat edycji genów i genomów, a w 2018 dwa razy więcej. W czasie wykładu zostanie przedstawiona organizacja i mechanizmy działania bakteryjnego systemu CRISPR oraz skonstruowanego, uniwersalnego narzędzia jakim jest system CRISPR/Cas9. Zasadnicza część wykładu zostanie poświęcona przykładom genomów bakterii, roślin uprawnych i zwierząt hodowlanych zmodyfikowanych metodą edycji DNA, w kierunku pożądanym dla celów biotechnologicznych. Na tym tle podjęta zostanie dyskusja na temat pojęcia GMO (*genetically modified organism*) i różnic pomiędzy organizmami transgenicznymi, noszącymi obce fragmenty DNA, a organizmami otrzymanymi po edycji DNA, u których dokonano subtelnych zmian informacji genetycznej w ich własnych genomach. Szczególna uwaga zostanie skoncentrowana na wynikach przełomowych prac dotyczących użycia systemu CRISPR/Cas9 do ukierunkowanej modyfikacji genomów ludzkich komórek somatycznych, które stwarzają nadzieję przełamania dotychczasowej bariery w terapii *ex vivo* i *in vivo* wielu jednogenowych chorób genetycznych człowieka, a w dalszej perspektywie także wielogenowych, w tym również chorób nowotworowych. Podjęte ostatnio próby użycia metody edycji DNA, z wykorzystaniem zarodków ludzkich oraz formułowane propozycje ich praktycznych zastosowań dla leczenia dziedzicznych chorób genetycznych, czy poprawiania genomu, wzbudziły zdecydowane protesty i ogromne obawy, przede wszystkim z racji ogromnych zagrożeń dla ewolucyjnego, harmonijnego rozwoju *Homo sapiens*. Stąd, dzisiaj, w XXI wieku, bardzo wielu ludzi, autorytetów w dziedzinie genetyki, medycyny, antropologii, bioetyki, filozofii zadaje sobie pytanie, czy nie dokonuje się obecnie reinkarnacja eugeniki, ale z łagodniejszym obliczem? Stąd, w 2015 roku profesor Jennifer Doudna, współtwórczyni narzędzia

CRISPR/Cas9, wezwwała do ogłoszenia światowego moratorium na stosowanie tej metody u ludzi, bo może to doprowadzić do nieprzewidywalnych konsekwencji. Dr Frank Ryan, członek *Royal Society of Medicine* napisał w książce „*Tajemniczy Świat Genomu Ludzkiego*”: „Uważam to za równie wielki krok naprzód, jak odkrycie siły ciężkości przez Newtona, teorii względności przez Einsteina oraz przeobrażenia innych jego odkryć w bombę atomową. I podobnie jak tamte epokowe odkrycia, również kryje w sobie potencjał wielkiego dobra i wielkiego zła” !!

CRISPR/Cas9 – revolutionary gene editing method (hopes, concerns, dilemmas and threads)

*„The highest moral obligation of scientists is to acquire knowledge
and to apply it for the benefit of mankind“.*

James Watson

Bacterial CRISPR/Cas defense system against infections caused by phages discovered in 1987 and functionally characterized in cells of numerous kinds of bacteria between 2000 and 2007, has become during the last decade the foundation for creating CRISPR/Cas9, the new perfected genome editing tool for a targeted, accurate, genetic engineering of bacteria, phages, plants and animals. New advanced technology has enabled targeted genetic modification of all living organisms including human somatic cells as well as germ cells.

The growing worldwide interest and fascination with the prospects for the future application of CRISPR/Cas9 for gene editing is visible in numerous publications in the leading scientific journals. In 2012 there were only 126 publications. The groundbreaking research papers were published in 2012 and 2013 in *Science* by Jennifer A. Doudna, Feng Zhang, George Church, Jin-Soo Kim, Luciano Marraffini. In 2016 there were 2155 publications on genome editing and in 2018 this number has doubled.

In my lecture I will discuss the organization and the mechanisms of CRISPR bacterial system as well as the universal genome editing tool based on the CRISPR/Cas9 system. The main part of the lecture will be dedicated to examples of genome editing in bacteria, crop plants and farm animals for biotechnological purposes. During the lecture I will discuss the definition of GMO organisms and the differences between transgenic organisms harboring foreign DNA and the organisms obtained by gene editing in which subtle modifications of genome were carried out.

Special attention will be given to the groundbreaking research results on the application of CRISPR/Cas9 system for the targeted modification of human somatic cells, which gives hope for overcoming the barrier in the ex vivo and in vivo treatments of single gene human genetic defects and in the future multigene diseases including cancer. The recent attempts to use gene editing method in human embryos and the suggestions for their practical application in the treatment of genetic diseases as well as the genome correction have aroused strong protests and concern primarily because of the potential threat it poses to the harmonious evolutionary development of *Homo sapiens*. Thus, today in 21st century many people, experts in the field of genetics, anthropology, medicine, bioethics, philosophy ask themselves a question as to whether we are not witnessing the revival of eugenics in a softer form. Professor Jennifer Doudna, the coauthor of the CRISPR/Cas9 tool issued a call for an international moratorium on gene editing in humans as it may lead to implausible consequences. Dr. Frank Ryan, Fellow of the Royal Society of Medicine in his book entitled *The*

Mysterious World of the Human Genome wrote: I consider gene editing an equally big step forward as the Newton's law of gravity, Einstein's theory of relativity and the further modifications of his other discoveries that led to the creation of atomic bomb. Like all those impactful discoveries it carries the potential for the great good as well as the great evil.

Z impetem wgląb: mikrobiom gleb rolniczych

Małgorzata Jędrzycka¹, Magdalena Frąc², Silja E. Hannula³, Marta Bełka⁴,
Renata Gaj⁴

¹ Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu; ² Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk w Lublinie; ³ Holenderski Instytut Ekologii, Wageningen, Holandia;

⁴ Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Wszystkie działania agrotechniczne, takie jak stosowanie płodozmianu, system uprawy roli, nawożenie czy użycie pestycydów, wpływają na mikrobiom glebowy. Działania te powinny chronić populacje pożytecznych mikroorganizmów, przyczyniając się do ich supresyjnego działania. Supresyjność gleb można dodatkowo zwiększyć przez dodanie określonych biopolimerów, takich jak chityna, co prowadzi do dalszej zmiany aktywności i struktury populacji mikroorganizmów glebowych. Wybór odpowiedniej agrotechniki może zapobiec lub zmniejszyć szkody powodowane przez mikroorganizmy znajdujące się w glebie i odegrać kluczową rolę w utrzymaniu jej zdrowotności i jakości. Najważniejszą klasą pożytecznych mikroorganizmów w glebach rolniczych są Rhizobacteria promujące wzrost roślin (PGPR) i grzyby mikoryzy arbuskularnej (AMF). PGPR i AMF często działają synergicznie, przyczyniając się do korzyści w uprawach rolniczych. Choroby roślin rolniczych mogą być ograniczane przez niektóre mikroorganizmy antagonistyczne. Mogą one także przyczyniać się do bioprimingu,

w tym indukowanej odporności systemicznej roślin. W glebach rolniczych znajdują się także patogeny roślin, takie jak grzyby z rodzaju *Fusarium*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora* i wiele innych, które mogą powodować choroby roślin o znaczeniu gospodarczym. Skutecznym narzędziem zapobiegającym procesom degradacji gleb, oprócz podstawowej oceny właściwości fizyko-chemicznych, powinna być regularna kontrola aktywności mikrobiologicznej danej gleby.

Mining the depths: microbiome of agricultural soils

All cultural practices, such as crop rotation, tillage system, soil amendments, fertilization and the pesticide use affect soil microbiome. These practices should protect the populations of beneficial microorganisms, making soils suppressive to pathogens. It was found the suppressiveness of soils can be enhanced by adding certain biopolymers such as chitin, what leads to further change of the activity and structure of soil microorganism populations. Understanding and selecting the appropriate cultural practices can prevent or decrease damage of root diseases and play a crucial role in the maintenance of soil health and quality. The most important class of beneficial microorganisms in agricultural soils are Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF). PGPR and AMF often have synergistic effects, favorable to agricultural crops. The diseases of crop plants can be controlled by some antagonistic microorganisms. Certain microorganisms can also lead to biopriming, including Induced Systemic Resistance of plants. Beside beneficial microorganisms agricultural soils contain also plant pathogens, such as fungi from the genus *Fusarium*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora* and many others, which may cause plant diseases of economic importance. Therefore, soil management should also consider the impact on soil microbiome and prevent from its degradation.

Precyzyjna kontrola replikacji jako kluczowy element stabilności wieloreplikonowych genomów bakteryjnych

Andrzej Mazur, Kamil Żebracki, Piotr Koper, Małgorzata Marczak,
Anna Skorupska

Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-031 Lublin

Wierne przekazywanie informacji genetycznej (w szczególności istotnych genów rdzeniowych, ang. *essential core genes*) do komórek potomnych jest niezbędnym warunkiem przetrwania bakterii w środowisku. Zjawisko to nabiera szczególnego znaczenia w wieloczęściowych genomach bakteryjnych. Z tego powodu replikacja wszystkich replikonów, które mogą występować w komórce podlega ścisłej kontroli i synchronizacji z podziałem komórki. Istotne geny rdzeniowe są zazwyczaj ulokowane na chromosomie bakterii, jednakże w wielu przypadkach znajdują się także na niskokopijowych replikonach pozachromosomalnych (ER, ang. *extrachromosomal replicons*) – nazywanych wówczas chromidami, które zazwyczaj są wyposażone w typowe dla plazmidów systemy replikacji/partycji. Większość ER symbiotycznych bakterii glebowych zwanych rizobiami, zawiera kasetę genów *repABC*, która odpowiada za ich replikację i partycję do komórek potomnych. Precyzyjne mechanizmy replikacji i partycji replikonów *repABC* oraz bardzo złożona regulacja ekspresji kaset *rep* zapewnia pozachromosomalnym replikonom rizobiów bardzo dużą stabilność segregacyjną i skuteczne dziedziczenie istotnych genów ulokowanych na chromidach, a koordynacja tych procesów z podziałami komórkowymi warunkuje stabilność całego genomu.

Precise control of replication as a key element of multipartite bacterial genomes stability

Faithful vertical transmission of genetic information (especially essential core genes) to daughter cells is prerequisite for bacterial survival in the environment. This phenomenon is of special importance in multipartite bacterial genomes. Hence, replication of all replicons existing in the cell is tightly controlled and synchronized with bacterial cell division. Essential core genes are usually located in the chromosome of bacteria, however they can also be found in low-copy-number extrachromosomal replicons (ER) – known as chromids, which are equipped with replication/partition systems typical for plasmids. Most ER of symbiotic soil bacteria collectively called rhizobia, contain *repABC* genes cassette, which is responsible for their replication and partition to daughter cells. Sophisticated mechanisms of replication and partition of the *repABC*-based replicons and a complex regulation of *rep* cassettes expression provide huge segregational stability of ER and effective inheritance of essential genes located in chromids, while coordination of these processes with cell division ensures overall genome stability.

Analizy metagenomiczne w badaniach nad bakteriami i wirusami patogenicznymi dla roślin

Joanna Puławska

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

Dzięki klasycznym metodom diagnostycznym przez lata zidentyfikowano kilkadziesiąt gatunków bakterii i wirusów patogenicznych dla roślin. Odkrycia te bazowały na klasycznych metodach diagnostycznych opartych na obserwacji objawów chorobowych, testach biologicznych oraz, w przypadku bakterii na hodowli na podłożach mikrobiologicznych, a w przypadku wirusów na mikroskopii elektronowej i serologii. Te odkrycia ukształtowały i determinowały podejście fitopatologów do chorób roślin i ich czynników sprawczych przez dziesiątki lat. Jednak klasyczne metody mikrobiologiczne mają sporo ograniczeń, przede wszystkim z tego względu, że wykrywanie jest ukierunkowane na „hodowalne” lub nawet tylko znane fitopatogeny. Dopiero w ostatnich latach, rozwój technik, zwłaszcza sekwencjonowania nowej generacji i analizy metagenomicznej pozwoliły na odkrycie nowych patogenów, a także podjęcie próby poznania ich znaczenia dla zdrowotności roślin, mechanizmów oddziaływania z rośliną-gospodarzem, a także zrozumienia ich roli w środowisku.

Metagenomic analyzes in studies of bacteria and viruses pathogenic for plants.

Thanks to the classic diagnostic methods, several dozen species of bacteria and viruses pathogenic for plants have been identified over the years. These findings were based on classical diagnostic methods relying on the observation of disease symptoms, biological tests and in case of bacteria on culture on microbiological media, while in the case of viruses on electron microscopy and serology. These discoveries formed and determined the approach of phytopathologists to plant diseases and their causative agents for decades. However, classical microbiological methods have many limitations, primarily because the detection is directed to "culturable" or even only known phytopathogens. Only in recent years, the development of techniques, especially new generation sequencing and metagenomic analysis have allowed discovering new pathogens, as well as to make attempts to understand their significance for plant health, mechanisms of interaction with the host plant, and understanding their role in the environment.



Referaty



Zastosowanie metod klasycznych i metagenomicznych w badaniach populacyjnych bakterii z rodzaju *Bradyrhizobium*

Joanna Banasiewicz¹, Weronika Matuszkiewicz¹, Tomasz Stępkowski¹

¹Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Celem projektu było połączenie metod tradycyjnych opartych na analizie filogenetycznej wybranych genów markerowych (metoda MLSA) izolatów ryzobium pochodzących z brodawek korzeniowych *Macroptilium atropurpureum* z metodą amplifikacji genu *nifD* przy użyciu starterów specyficznych dla rodzaju *Bradyrhizobium* wykonanej na matrycy DNA izolowanego z gleby. Próbkę gleby pochodziły z południowo-wschodniej Brazylii z obszarów pierwotnie zajmowanych przez Tropikalny Las Atlantycki, który został jednak poddany bardzo silnym wpływom przez czynniki antropogeniczne. Oba podejścia badawcze ujawniły te same - dominujące grupy filogenetyczne w badanych próbkach gleby, jak również obecność szeregu grup stanowiących potencjalnie nowe gatunki *Bradyrhizobium*. Badania te wykazały ponadto obecność grup charakterystycznych dla Australii na obszarach na których wprowadzono australijskie gatunki akacji (np. *Acacia mearnsii*), a także szczepów europejskich na obszarach zasiedlonych przez kolcolist europejski (*Ulex europaeus*). Pokazuje to, że introdukcji obcych gatunków Fabaceae bardzo często towarzyszy niekontrolowane rozprzestrzenianie się ich symbiontów bakteryjnych.

Badania finansowane przez grant UMO-2014/15/B/NZ8/00259 Narodowego Centrum Nauki (NCN)

The application of classical and metagenomic methods in population studies of the genus *Bradyrhizobium*

The aim of the project was to combine traditional methods based on phylogenetic analysis of selected marker genes (MLSA method), carried out on rhizobial isolates originating nodules of *Macroptilium atropurpureum* with the method of amplification of *nifD* gene using specific for *Bradyrhizobium* primers, performed on DNA templates isolated from soil samples. The soil samples were collected in the south-eastern Brazil, in areas originally occupied by the Tropical Atlantic Forest, which, however, was subjected to very strong transformation by various anthropogenic factors. Both research approaches revealed the presence of the same - dominant phylogenetic groups in the soil samples studied, as well as the presence of a number of groups constituting potentially new *Bradyrhizobium* species. These studies also showed the presence of groups characteristic of Australia in areas where Australian acacia species were introduced (e.g. *Acacia mearnsii*), as well as the presence of “European” strains in areas inhabited by gorse (*Ulex europaeus*). This work shows that the introduction of exotic Fabaceae species is very often accompanied by an uncontrolled spread of their bacterial symbionts.

Metataksonomia - w poszukiwaniu mikrobiologicznej "ciemnej materii"

Jarosław Grządziel¹, Anna Gałązka¹

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy,
Zakład Mikrobiologii Rolniczej, 24-100 Puławy, ul. Czarторыskich 8

Rozwój oraz niesłabnące zainteresowanie metodami takimi jak metagenomika czy metataksonomia, umożliwiły niespotykane do tej pory poszerzenie znajomości świata mikroorganizmów. Szacuje się jednak, że nadal 60-99% mikroorganizmów, nazywanych mikrobiologiczną „ciemną materią” pozostaje poza zasięgiem obecnych metod poznawczych. Nowoczesne metody wysokoprzepustowego sekwencjonowania wykorzystywane w metataksonomicie umożliwiają poznanie różnorodności mikrobiologicznej, bez konieczności wcześniejszego wyhodowania poszczególnych gatunków. Rozwój narzędzi bioinformatycznych umożliwia coraz bardziej precyzyjne wyselekcjonowanie odczytów dobrej jakości oraz identyfikację taksonomiczną. Przypisanie prawidłowej taksonomii okazuje się najważniejszym ale i najtrudniejszym etapem, w którym popełnienie błędu będzie skutkowało nieprawidłową interpretacją wyników badań. W niniejszej prezentacji omówione zostaną dostępne mechanizmy klasyfikujące wykorzystywane w analizach metataksonomicznych oraz ich możliwości i ograniczenia dotyczące klasyfikacji zarówno znanych gatunków jak i tych należących do mikrobiologicznej „ciemnej materii”.

Metataxonomics – in the search of microbial „dark matter”

The development and ongoing interest in methods such as metagenomics and metataxonomics enabled to broaden the knowledge of microorganisms diversity. It is estimated, however, that still 60-99% of microorganisms, called microbiological "dark matter", remain beyond the reach of current research methods. Modern high-throughput sequencing methods used in metataxonomics make it possible to learn about microbiological diversity without the need for prior cultivation of individual species. The development of bioinformatics tools enables more precise selection of high quality reads and taxonomic identification. Assigning the correct taxonomy is the most important but also the most difficult stage in which making a mistake will result in incorrect interpretation of research results. This presentation will discuss the available classification mechanisms used in metataxonomic analyses and their possibilities and limitations concerning the classification of both known species and those belonging to the microbiological "dark matter".

Praca realizowana w ramach zadania 1.4 Programu Wieloletniego IUNG-PIB 2016-2020: „Ocena i kształtowanie bioróżnorodności środowiska glebowego oraz aktywności mikrobiologicznej gleb z uwzględnieniem warunków siedliskowych i systemów gospodarowania”

Różnorodność zbiorowiska grzybów zasiedlających pniaki czeremchy amerykańskiej (*Prunus serotina* EHRH)

Robert Korzeniewicz, Natalia Kartawik, Adrian Łukowski, Marlena Baranowska, Jolanta Behnke-Borowczyk

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Celem badań była identyfikacja zbiorowiska grzybów pni czeremchy amerykańskiej. Badano frekwencję i różnorodność grzybów w 72 pniach czeremch z Nadleśnictwa Podanin. DNA ekstrahowano zestawem Plant Genomic DNA Purification (Thermo Scientific). Amplifikację ITS 1/2 rDNA przeprowadzono starterami specyficznymi dla grzybów. Produkty PCR oczyszczono i sekwencjonowano (Illumina w Genomed S.A.). Wyniki poddano analizie bioinformatycznej i statystycznej. Sekwencje zidentyfikowano przez porównanie z sekwencjami z bazy danych UNITE. Uzyskano 449910 sekwencji. Frekwencja Ascomycota wynosiła 55,83–49,62%, a Basidiomycota 18,91–44,16% (odpowiednio zimą i latem). Pnie były skolonizowane przez 1017 taksonów. Wyniki analizy statystycznej wskazują na większą różnorodność pniaków powstałych latem. Najliczniej identyfikowano Ascomycota (14,99% -2,51%), *Microbotryomycetes* sp. (0,34% -11,90%), *Proliferodiscus* sp. (10,50% -3,87%), *Pleurophoma ossicola* (7,68% -0,03%), *Ceratobasidium* (0,00% -7,57%) (odpowiednio zimą i latem). Dominujący udział saprotrofów wskazuje na postępujący proces rozkładu w pniach.

Badania finansowane w ramach tematu zleconego przez PGL LP 10/17 Opracowanie sposobów zwalczania czeremchy amerykańskiej w drzewostanach sosnowych

Biodiversity of fungi inhabiting the stumps of Black Cherry (*Prunus serotina* Ehrh)

The aim of the research was to research the fungal communities inhabiting Black Cherry stumps. Abundance and diversity of fungi were studied in 72 Black Cherry stumps collected in in the Podanin Forest District. DNA was extracted with Plant Genomic DNA Purification (Thermo Scientific) Kit, according to instructions. ITS 1/2 rDNA amplification was performed with fungi-specific primers. The PCR products were purified and sequenced (Illumina system in the Genomed S.A). The results were bioinformatic and statistical analysis. Sequences were identified by comparison with reference sequences from UNITE database. In total, 449910 sequences wre obtained. Frequency of Ascomycota was 55.83-49.62% and of Basidiomycota was 18.91-43.16% (in winter and summer, respectively). The stumps were colonised by 1017 taxa. Results of statistical analysis indicate a trend towards increased diversity in cherry stumps formed in the summer. The most common taxon of fungi were Ascomycota (14.99%-2.51%), *Microbotryomycetes* sp. (0.34%-11.90%), *Proliferodiscus* sp. (10.50%-3.87%), *Pleurophoma ossicola* (7.68%-0.03%), *Ceratobasidium* (0.00%-7.57%), *Diaporthe helicis* (0.02%-6.32%) (in winter and summer, respectively). The dominant share of fungi associated with wood decomposition indicates the progressing process of decomposition in stumps.

Strukturalna różnorodność metagenomu bioaerozolowego

Jacek Kozdrój

Katedra Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski w Rzeszowie

Poznanie mikrobiomów glebowych czy wodnych poprzez analizy metagenomiczne jest dalece bardziej rozwinięte aniżeli podobne badania mikroorganizmów występujących w powietrzu. Bieżąca wiedza o mikrobiomie powietrznym opiera się głównie na badaniach z użyciem podłoży hodowlanych. Nie odzwierciedla to jednakże rzeczywistego składu oraz aktywności całej społeczności mikroorganizmów bytujących w powietrzu. Poniekąd wynika to ze stwierdzanego niskiego stężenia komórek mikroorganizmów

w powietrzu, czy braku wydajnych sposobów ich wyodrębniania z tego środowiska. W metrze sześciennym powietrza mogą występować setki tysięcy komórek mikroorganizmów o zróżnicowaniu porównywalnym do tego panującego w glebie. Najczęściej zanjdownani są przedstawiciele Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria, Cyanoobacteria, jak również grzyby z rodzaju *Cladosporium*, *Aspergillus* lub *Penicillium*. Źródłem tych mikroorganizmów są gleba, woda, rośliny, człowiek, zwierzęta występujące w miejscu analizowanego powietrza, ale mogą być także naniesione niekiedy z odległych rejonów wraz z prądami powietrza. Analiza metagenomiczna wykazuje, że od 40 do ponad 60 % bakterii w powietrzu mogą stanowić rzadkie rodzaje (poniżej 2 % ogółu sekwencji DNA). Skład mikrobiomu powietrznego podlega ustawicznym zmianom w czasie i przestrzeni, a także w zależności od zanieczyszczenia powietrza oraz rodzaju użytkowania terenów czy obiektów.

W powietrzu wewnątrz obiektów struktura mikrobiomu jest odmienna aniżeli w powietrzu zewnętrznym.

Structural diversity of bioaerosol metagenome

Understanding the soil or water microbiome through metagenomic analyses is far more developed than similar studies of microorganisms occurring in the air. Current knowledge about the airborne microbiome is based mostly on studies using culture media. However, this does not reflect the actual composition and activity of the entire community of microorganisms inhabiting the air. In a sense, this is due to the low concentration of microbial cells found in the air, or the lack of efficient ways to isolate them from this environment. In a cubic meter of air, there may be hundreds of thousands of microbial cells with a diversity comparable to that prevailing in the soil. The most frequently reported are representatives of Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria, Cyanoobacteria, as well as fungal genera of *Cladosporium*, *Aspergillus* or *Penicillium*. The source of these microorganisms is soil, water, plants, man, animals occurring in the place of the analyzed air, but they can also be transferred sometimes from distant regions together with air currents. Metagenomic analysis shows that 40 to over 60% of bacteria in the air can be rare species (less than 2% of the total DNA sequences). The composition of the airborne microbiome is subject to constant changes in time and space, as well as depending on air pollution and the type of use of land or facilities. In the air inside the buildings, the structure of the microbiome is different than in the outdoor air.

Zróźnicowanie mikrobiomu jelitowego u mutantu świerszcza domowego z zaburzonym metabolizmem tryptofanu

Katarzyna Kudła¹, Kornela Kukuła², Oliwia Metryka², Monika Malicka¹,
Jacek Francikowski³, Sławomir Sułowicz¹

¹Katedra Mikrobiologii, ²Katedra Biochemii, ³Katedra Fizjologii Zwierząt i Ekotoksykologii,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach

Choroby neurodegeneracyjne, depresja czy zaburzenia ze spektrum autyzmu często wiązane są z zaburzeniem metabolizmu tryptofanu (Trp). Jednocześnie towarzyszą im zmiany w składzie mikrobiomu układu pokarmowego. To może wskazywać, że oba te czynniki mogą być częściowo powiązane i służyć jako biomarker zmian chorobowych.

Celem projektu było zbadanie zależności między metabolizmem tryptofanu a mikrobiomem jelitowym z wykorzystaniem owadziego organizmu modelowego – świerszcza domowego *Acheta domestica*. Zsekwencjonowano (16S rRNA) mikrobiom mutantu z białym kolorem oczu (linia *white*) charakteryzującego się zaburzeniem metabolizmu Trp i porównano do grupy kontrolnej dzikiej linii *black*. Badane linie świerszczy różniły się istotnie składem mikrobiomu jelitowego. Dodatkowo zaobserwowano, że w obrębie mutantów linii *white* skład mikrobiomu był zależny od płci. Uzyskane wyniki dostarczają pierwszych informacji o zależnościach między metabolizmem tryptofanu a mikrobiomem jelitowym owadziego organizmu modelowego.

Badania realizowane w ramach Projektu „Innovative Start” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej (Europejski Fundusz Społeczny)

Gut microbiome diversity of *Acheta domestica* tryptophan metabolic mutant

Neurodegenerative diseases, depression or autism spectrum disorder are often correlated with disorders in the metabolism of tryptophan and changes in the structure of gut microbiome. It indicates possible causation between these factors that can be used as a biomarker of illness.

The aim of this project was to assess the mutation effect in the tryptophan metabolic pathways on the diversity of gut microbiome of model insect organisms, house cricket *Acheta domestica*. The gut microbiome structure of eye mutant (*white* line) that was marked by disorders in Trp metabolism was compared to the control wild group (*black* line). Based on the analysis of 16S rRNA the significant difference in gut microbiome structure was detected between cricket lines. Moreover, sex of *Acheta domestica* significantly impacted the gut microbiome of cricket mutant. Our results provides first information about changes in gut microbiome in response to Trp metabolism disorders for model insect organism.

This study was perform as a part of „Innovative Start” project, co-funded by European Union (European Social Fund)

Zmienność mikrobiomu endofitycznego w odmianach pszenicy jarej

Agnieszka Kuźniar^{1*}, Kinga Włodarczyk¹, Orysia Makar³, Nataliya Romanyuk³,
Ewa Dziadczyk², Ewa Skórzyńska – Polit², Agnieszka Wolińska¹

¹Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Instytut Biotechnologii, Katedra Biochemii
i Chemii Środowiska, ul. Konstantynów II, 20-708 Lublin

²Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Instytut Biotechnologii Katedra Fizjologii
i Biotechnologii Roślin, ul. Konstantynów II, 20-708 Lublin

³Ivan Franko National University of Lviv, Plant Physiology and Ecology Dept., Hrushevsky
St., 4, 79005 Lviv, Ukraine
*agnieszka.kuzniar@kul.pl

Mikrobiom endofityczny roślin tworzy społeczność mikroorganizmów, które wykazują wzajemne relacje troficzne względem siebie.

Celem badań była analiza mikrobiomu endofitycznego, zasiedlającego wnętrza tkanek siewek pszenicy jarej, rosnących w warunkach *in vitro* (odmiany Dubravka, Stryna Myronivs'ka, Myronivs'kyi Oksamyt). Izolacja DNA była prowadzona z użyciem DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit (QIAGEN). Sekwencjonowanie Następnej Generacji zostało wykonane z użyciem technologii MiSeq 2000 firmy Illumina (Genomed, Warszawa, Illumina Inc., San Diego, CA, USA).

Spółeczność endofitów charakteryzowała się różnorodnością względem badanej odmiany, a także organu gospodarza. Badane odmiany pszenicy jarej wykazywały obecność mikroorganizmów endofitycznych należących do rodzajów: *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacillus*, *Heliorestis* a także *Clostridium*.

Szczegółowa analiza składu i funkcji mikrobiomu endofitycznego może przyczynić się do rozwoju nowej grupy biopreparatów – fitoprobiotyków.

Variability of endophytic microbiome in spring wheat cultivars

The endophytic microbiome of plants constitute a community of microorganisms that exhibit mutual trophic relationship to each other.

The aim of the study was to analyze the endophytic microbiome inhabiting the inside of the tissues of spring wheat seedlings growing *in vitro* (cultivars: Dubravka, Stryna Myronivs'ka, Myronivs'kyi Oksamyt). DNA extraction was performed with use of DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit (QIAGEN). The Next Generation Sequencing was realized using Illumina's MiSeq 2000 technology (Genomed, Warsaw, Illumina Inc., San Diego, CA, USA).

The endophyte communities were characterized by diversity versus the tested variety, as well as the host organism. Tested cultivars of spring wheat showed the presence of endophytic microorganisms belonging to the genera: *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacillus*, *Heliorestis* and *Clostridium*.

Detailed analysis of the composition and function of the endophytic microbiome may contribute to the development of a new group of biopreparations - phytoprobiotics.

The project is partly financed by the National Center for Research and Development as part of the LIDER IX - 0024 / L-9/2017 program. and by the Visegrad Fund, Visegrad Scholarship #51810815

Zróźnicowanie fenotypowe i genetyczne mikroorganizmów wyizolowanych z brodawek korzeniowych *Trifolium rubens*

Anna Marzec-Grządziel¹, Anna Gałązka¹, Monika Marek – Kozaczuk²,
Anna Skorupska²

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

² Uniwersytet Marii Curie – Skłodowskiej w Lublinie, Zakład Genetyki i Mikrobiologii

Azot jako pierwiastek wchodzący w skład aminokwasów, zasad azotowych oraz cząsteczek pełniących funkcję w transporcie energii w komórce jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania organizmów. Większość azotu na Ziemi występuje w postaci niedostępnej dla organizmów żywych. Symbioza pomiędzy roślinami a mikroorganizmami w znaczący sposób zwiększa pulę azotu dostępnego dla tych organizmów.

Celem pracy było zbadanie zróźnicowania genetycznego i fenotypowego bakterii wyizolowanych z brodawek korzeniowych koniczyny *Trifolium rubens*. Analiza genetyczna przeprowadzona została z zastosowaniem testu ERIC – PCR. Na podstawie analizy genetycznej wybrano izolaty, które następnie poddano analizie fenotypowej wykorzystując szereg testów metabolicznych oraz wykonując analizę BIOLOG na płytkach GenIII. Dodatkowym aspektem badań był biotest przeprowadzony z zastosowaniem wybranych szczepów na dwóch modelach roślinnych – koniczynie łąkowej (*Trifolium pratense* L.) oraz grochu (*Pisum* L., odmiana Hubal).

Genetic and phenotypic diversity of microorganisms isolated from roots nodules from *Trifolium rubens*

Nitrogen as an element of amino acids, nitrogen bases and molecules used in the transport of energy in a cell is essential for the proper functioning of organisms. Most of the nitrogen on Earth occurs in a form inaccessible to living organisms. The symbiosis between plants and microorganisms significantly increases the pool of nitrogen available to these organisms.

The aim of the study was to investigate the genetic and phenotypic diversity of bacteria isolated from the roots of *Trifolium rubens*. The genetic analysis was carried out with the use of the ERIC - PCR test. Isolates, which were selected on the basis of genetic analysis, were then subjected to phenotypic analysis using a number of metabolic tests and BIOLOG analysis on GenIII plates. An additional aspect of the study was a biotest carried out with the use of selected strains on two plant models - red clover (*Trifolium pratense* L.) and pea (*Pisum* L., Hubal variety).

Zróźnicowanie genomowe mikrospołeczności ryzosferowej i endofitycznej koniczyny białej zasiedlającej hałdę Zn-Pb w południowej Polsce

Ewa Oleńska¹, Jaco Vangronsveld², Sofie Thijs², Wanda Małek³

¹University of Białystok, Institute of Biology, Department of Genetics and Evolution, Ciołkowskiego 1J, 15-245 Białystok, Poland

²Hasselt University, Centre for Environmental Sciences, B-3590 Diepenbeek, Belgium

³Maria Curie Skłodowska University, Institute of Microbiology and Biotechnology, Department of Genetics and Microbiology, Akademicka 19, Lublin, Poland

Galmanowe zwałowiska pokopalniane są stanowiskami o wysokim stężeniu metali ciężkich, głównie cynku, ołowiu i kadmu. Metale ciężkie obecne w glebie, mogą działać jako czynnik selekcji naturalnej, i w istotny sposób przyczynić się do modyfikacji struktury taksonomicznej mikrospołeczności ryzosferowych. ARISA (ang. *automated ribosomal intergenic spacer analysis*) jest jedną z metagenomowych technik, niezależnych hodowalnie, opartej na reakcji 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 southern Poland

Calamine post-mining deposits are highly heavy metal polluted areas, mainly zinc, lead and cadmium. Heavy metals present in the soil may act as a factor of the natural selection pressure, shaping the taxonomical structure of the microcommunities. Automated ribosomal intergenic spacer analysis (ARISA) 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.

Zastosowanie metagenomiki w fitopatologii na przykładzie *Armillaria ostoyae* (Romagn) Herink

Sebastian Wojciech Przemieniecki, Zbigniew Sierota, Marta Damszel,
Sławomir Ciesielski, Tomasz Kurowski

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Grzyby pasożytnicze przyczyniają się do poważnych strat gospodarczych w gospodarce leśnej. W Polsce gatunek *Armillaria ostoyae* stanowi problem na terenie 170 tysięcy hektarów. W przeciwdziałaniu chorób roślin ważne jest poznanie mechanizmu działania fitopatogenów. Celem badań było wykazanie potencjalnego udziału bakterii kolonizujących ryzomorfy w procesie zamierania drzewa. Fragmenty ryzomorf pobrano z drzew (Sosna zwyczajna *Pinus sylvestris* L.) w różnym stadium zamierania (bez objawów, wyraźne objawy, martwe), a następnie przeprowadzono homogenizację i izolację DNA (QIAamp PowerFecal DNA Kit, Qiagen). Sekwencjonowanie przeprowadzono przy użyciu starterów komplementarnych dla 16S rDNA (S-D-Bact-0341-b-S-17 i S-D-Bact-0785-a-A-21). Wyniki analizy z podziałem na klasy dominacji oraz dane statystyczne (STAMP) wykazały liniowe zwiększenie udziału rodzaju *Bacillus* spp (1% - drzewo zdrowe, 6%-drzewo z objawami, 14%-drzewo martwe), natomiast dwa rodzaje bakterii, tj. *Parabacteroides* spp., *Clostridium* spp. były dominantami w każdej z analizowanych ryzomorf, a ich udział wynosił powyżej 10%. Porównanie wyników metagenomicznych z ilościową analizą enzymologiczną mikrobioty wskazało na wysokie powiązanie ilości i stężenia enzymów biorących udział w lizie drewna a wyodrębnionymi rodzajami bakterii.

Application of metagenomics in phytopathology on the example of *Armillaria ostoyae* (Romagn) Herink

The parasitic fungi contribute to serious economic losses in forest management. In Poland, *Armillaria ostoyae* is a problem in 170,000 hectares. In preventing plant diseases, it is important to know the mechanism of action of phytopathogens. The aim of the study was to show the potential contribution of bacteria colonizing rhizomorphs in the tree dieback process. Fragments of rhizomorph were taken from trees (Scots pine *Pinus sylvestris* L.) at various stages of dieback (no symptoms, clear symptoms, dead), followed by homogenization and DNA isolation (QIAamp PowerFecal DNA Kit, Qiagen). Sequencing was performed using primers complementary to 16S rDNA (S-D-Bact-0341-b-S-17 and S-D-Bact-0785-a-A-21). The results of the analysis divided into dominance classes and statistical data (STAMP) showed a linear increase in the share of the genus *Bacillus* (1% - healthy tree, 6% -tree with symptoms, 14% - dead), and two genera of bacteria, i.e. *Parabacteroides* spp. and *Clostridium* spp. were dominant in each of the analyzed rhizomorphs, and their share was above 10%. The comparison of metagenomic results with the quantitative enzymatic analysis of microbiota indicated a high association of the amount and concentration of enzymes involved in the lysis of wood and the isolated taxa of bacteria.

Wykorzystanie pożytecznych mikroorganizmów w praktyce ogrodniczej

Lidia Sas-Paszt, Anna Lisek, Paweł Trzeciński, Edyta Derkowska,
Sławomir Głuszek, Mateusz Frąć, Michał Przybył

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

Celem podjętych badań było opracowanie i wdrożenie biopreparatów mikrobiologicznych do nawożenia i ochrony roślin, z wykorzystaniem korzystnych interakcji pomiędzy roślinami a mikroorganizmami glebowymi w celu optymalizacji naturalnych metod uprawy roślin. Opracowano i wdrożono do praktyki rolniczej biopreparaty wzbogacone rodzimymi, pożytecznymi mikroorganizmami zgromadzonymi w SYMBIO BANK-u jako bionawozy, biostymulatory, ulepszacze glebowe i substraty wzrostowe. Nowo opracowane biopreparaty wdrożono do praktyki rolniczej i ogrodniczej w ramach współpracy z następującymi firmami: GRUPA INCO S.A. (Florovit AGRO wapno nawozowe granulowane PMG, Konsorcjum 1, Konsorcjum 2), TAYLOR Sp. z o.o. (nawóz organiczno-mineralny oraz ulepszacz glebowy na bazie łupków mułowych), PPHU ARK-POL (4 podłoża przeznaczone do upraw roślin warzywnych i zielarskich), THE Sp. z o. o. (biostymulator na bazie kwasów humusowych BACTERBASE). Opracowanie biopreparatów wzbogaconych pożytecznymi mikroorganizmami wpłynęło na rozwój firm wytwarzających bionawozy i biopreparaty, przyczyniając się do wzrostu ich konkurencyjności na rynku i dochodowości oraz do zwiększenia bezpieczeństwa żywności produkowanej w Polsce.

The use of beneficial microorganisms in horticultural practice

Research Institute of Horticulture, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

The aim of the research was to develop and implement microbiological biopreparations for plant fertilization and protection, using beneficial interactions between plants and soil microorganisms in order to optimize the natural methods of plant cultivation. The result was development and implementation into agricultural practice of biopreparations enriched with native beneficial microorganisms collected in the SYMBIO BANK for use as biofertilizers, biostimulants, soil improvers and growth substrates. The newly developed biopreparations have been implemented into agricultural and horticultural practice as part of cooperation with the following companies: GRUPA INCO S.A. (granulated lime fertilizer – Florovit AGRO Biofertilizer PMG, Consortium 1, Consortium 2), TAYLOR Sp. z o.o. (organic-mineral fertilizer and soil improver based on silty shale rock), PPHU ARK-POL (4 substrates intended for growing vegetable and herbal plants), THE Sp. z o. o. (biostimulant based on humic acids – BACTERBASE). The development of the biopreparations enriched with beneficial microorganisms has had an influence on the development of the companies producing the biofertilizers and biopreparations, contributing to the increase in their competitiveness on the market and their profitability, and to the increase in the safety of food produced in Poland.

The characteristic dependences of particular groups of microorganisms on soil water potential, grain size and gel addition were shown. Characteristic changes in the biodiversity of microorganisms are presented at the level of the class, order and type of microorganisms inhabiting the studied sandy soil.

Delecje dużych fragmentów genomu jako metoda funkcjonalnej analizy szlaku biosyntezy egzopolisacharydu *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*

Kamil Żebracki, Małgorzata Marczak, Magdalena Wójcik, Andrzej Mazur

Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-031 Lublin

Postęp, jaki w ostatnich latach dokonał się w dziedzinie genomiki mikroorganizmów, dzięki upowszechnieniu wysokoprzepustowych technik sekwencjonowania DNA, pozwolił na odczytanie kompletnych sekwencji wielu genomów i identyfikację wielu nieznanych dotąd genów. Mimo to ok. 1/3 dostępnych sekwencji w bazie danych Gene NCBI jest ciągle określana jako „gen hipotetyczny”. Jednym ze sposobów analizy funkcjonalnej niescharakteryzowanych genów jest generowanie dużych delecji w genomach. Takie podejście umożliwia równoczesną analizę większej puli genów i ułatwia identyfikację genu(ów) warunkujących dany fenotyp. Celem pracy była konstrukcja mutantów z dużymi delecjami w regionie Pss-I *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* TA1 (RtTA1), który jest skupiskiem ponad dwudziestu genów związanych z biosyntezą egzopolisacharydu (EPS). Na drodze niezależnych zdarzeń rekombinacji homologicznej w regionie Pss-I wprowadzono sekwencje *loxP* rozpoznawane przez rekombinazę Cre. Ekspresja dostarczonej na plazmidzie miejscowo-specyficznej rekombinazy Cre doprowadziła do usunięcia wyznaczonego sekwencjami *loxP* fragmentu genomu. Skonstruowane mutanty delecyjne zostaną wykorzystane w badaniu szlaku biosyntezy EPS RtTA1 i rekonstrukcji kompleksu enzymatycznego glikozylotransferaz.

Badania sfinansowano ze środków projektu NCN OPUS nr 2017/27/B/NZ9/01849

Large-scale genome deletions as a tool for functional analysis of the *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* exopolysaccharide biosynthesis pathway

Thanks to the high-throughput DNA sequencing techniques, great progress has been made in the field of microbial genomics. This resulted in the availability of many complete bacterial genomes and the identification of many previously unknown genes. However, about 1/3 of available genes in the Gene NCBI database is still referred to as the "hypothetical". One of the methods of functional analysis of uncharacterized genes is generation of large-scale genome deletions. This approach allows for simultaneous screening of many genes to identify those underlying a particular phenotype. The aim of this work was to obtain *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* TA1 (RtTA1) mutants with large deletions in the Pss-I region, clustering over twenty genes associated with exopolysaccharide (EPS) biosynthesis. The *loxP* target sequences were introduced into the Pss-I region through independent homologous recombination events. Subsequent expression of the site-specific Cre recombinase resulted in deletion of the desired genomic fragment. The deletion mutants will be used in the study of the RtTA1 EPS biosynthesis pathway and reconstitution of the glycosyltransferase complex.

This work was supported by the NCN OPUS grant no. 2017/27/B/NZ9/01849



Postery





Nowoczesne metody stosowane
w badaniach ekologii mikroorganizmów



Wpływ sposobu produkcji sadzonek sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) na zbiorowiska grzybów korzeni drobnych

Jolanta Behnke-Borowczyk, Marlena Baranowska, Natalia Kartawik,
Robert Korzeniewicz

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Celem badań było wskazanie czy sposób produkcji sadzonek wpływa na bioróżnorodność grzybów korzeni oraz czy do śmierci drzew na uprawach przyczyniły się grzyby patogeniczne. Badano żywe i martwe sosny z nagim i zakrytym systemem korzeniowym z rocznej uprawy w Leśnictwie Wielisławice. Do identyfikacji gatunkowej zbiorowiska grzybów wykorzystano region ITS 1/2 rDNA. Analizę przeprowadzono

z wykorzystaniem specyficznych starterów (ITS1 oraz 5.8S). Otrzymany produkt oczyszczono i sekwencjonowano (technologia SBS; Illumina w Genomed S.A. Warszawa). W zbiorowisku korzeni żywych sosen z produkcji kontenerowej dominowały *Hydnotrya tulasnei* (6,2%), Cephalothecaceae (5,9%), *Meliniomyces variabilis* (5,4%),

w zbiorowisku korzeni martwych sosen z produkcji kontenerowej *M. variabilis* (13,9%), *Pezizomycotina* (11,3%), *Fimetariella* sp. (9,1%). Najliczniejszym taksonem w przypadku sosen z nagim systemem korzeniowym był *Hygrophoraceae* (11,3%), a w przypadku martwych sosen z nagim systemem korzeniowym *Infundichalara minuta* (19,0%), *Helotiales* (16,1%), *Leotiomycetes* (12,1%). Większą różnorodnością cechowało się zbiorowisko grzybów żywych sosen. Metoda produkcji szkółkarskiej nie wpłynęła na różnorodność zbiorowisk korzeni. W zbiorowisku grzybów korzeni żywych drzew dominowały grzyby mikoryzowe, natomiast w martwych grzyby patogeniczne, co mogło przyczynić się do śmierci drzew.

Influence of the method of production of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) on diversity of root fungi

The aim of the study was to determine whether the method of seedling production affects the biodiversity of fungi of the Scots pine roots and whether pathogenic fungi have contributed to the death of trees. Living and dead pine trees with naked and covered root systems from annual cultivation in the Wielisławice Forestry were studied. The ITS 1/2 rDNA region was used to identify the species of fungi. The analysis was performed using specific primers (ITS1 and 5.8S). The product obtained was purified and sequenced (Illumina's SBS technology in Genomed S.A. Warsaw). In the collection of roots of living pines from container production, the following dominated: *Hydnotrya tulasnei* (6.2%), *Cephalothecaceae* (5.9%), *Meliniomyces variabilis* (5.4%), in the set of roots of dead pines from container production: *M. variabilis* (13.9%), *Pezizomycotina* (11.3%), *Fimetariella* sp. (9.1%). The most numerous taxa in the case of pines with a bare root system was *Hygrophoraceae* (11.3%), and in the case of dead pine trees with a bare root system: *Infundichalara minuta* (19.0%), *Helotiales* (16.1%), *Leotiomycetes* (12.1%). The diversity of living plants was characteristic for the diversity of dead pines. The method of seedlings production did not affect the diversity of pine root communities. Mycorrhizal fungi dominated in the collection of fungi of the roots of

living trees, while in the dead pathogenic fungi that could contribute to the death of trees.

Wpływ działania nanosrebra na żywotność drożdży z rodzaju *Candida*

Krystyna Cybulska, Daria Bzik, Sanaa Oraibi

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

W niniejszej pracy oceniono właściwości preparatów biobójczych na szczepy drożdży gatunku *Candida albicans*, będące głównym czynnikiem etiologicznym wielu zakażeń, zarówno w medycynie, jak i środowisku. W badaniu zastosowano preparaty zawierające nanosrebro, środki dezynfekcyjne oraz przeciwutleniacz. Próbę kontrolną doświadczenia stanowiły antybiotyki. Aktywność wybranych środków biobójczych analizowano z zastosowaniem metody dyfuzyjno-krażkowej. Na podstawie wyników otrzymanych w niniejszej pracy stwierdzono, że rodzaj preparatu, jak i jego stężenie mają zróżnicowany wpływ na zwalczanie testowanych drobnoustrojów. Istotne hamowanie wzrostu mikroorganizmów stwierdzono po zastosowaniu preparatów zawierających nanosrebro tj. Silveco 2000 (koncentrat) i 15% – 20% stężenia substancji Invexol. Istotnie mniejszy wpływ na drożdże posiadały preparaty Silveco 300 i aXonite 100.

Etoksykina i pozostałe dezynfektanty użyte w doświadczeniu nie działały skutecznie i nie ograniczały wzrostu badanych drobnoustrojów.

The effects of nanosilver on the viability of the *Candida* yeast

In this work, the properties of biocides on yeast strains of the *Candida albicans* species, which is the main etiological factor of many infections, both in medicine and the environment, were evaluated. The study used preparations containing nanosilver, disinfectants and antioxidant. Antibiotics were the control test for the experiment. The activity of selected biocides was analyzed using the disk diffusion method. Based on the results obtained in this study, it was found that the type of preparation and its concentration have a varied effect on the control of the tested microorganisms. Significant inhibition of the growth of microorganisms was found after using nanosilver preparations, i.e. Silveco 2000 (concentrate) and 15% - 20% concentration of Invexol substance. Significantly lower impact on yeast had preparations Silveco 300 and aXonite 100. Ethoxcin and other disinfectants used in the experiment did not work effectively and did not limit the growth of the studied microorganisms.

Wpływ warunków środowiskowych na strukturę mikrobiomu przewodu pokarmowego lina (*Tinca tinca* L.)

Tomasz Dulski¹, Krzysztof Kozłowski², Sławomir Ciesielski¹

¹ Katedra Biotechnologii w Ochronie Środowiska, Wydział Nauk o Środowisku, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

² Katedra Biologii i Hodowli Ryb, Wydział Nauk o Środowisku, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Lin (*Tinca tinca* L.), gatunek ryby słodkowodnej z rodziny karpiowatych (*Cyprinidae*) jest jednym z ważniejszych gatunków w akwakulturze. Ze względu na duże znaczenie komercyjne tego gatunku, lin przeszedł w ostatnich latach proces intensywnej domestykacji. Wiele badań przeprowadzonych w ostatnich latach wykazało, że mikrobiom przewodu pokarmowego ryb odgrywa ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu. Dlatego też, aby sprawdzić czy domestykacja ma wpływ na strukturę mikrobiomu przewodu pokarmowego zbadano dwie populacje ryb. Ryby udomowione pochodziły ze stawu hodowlanego, natomiast ryby dzikie zostały złowione w jeziorze. Dodatkowo określono wpływ sezonowości porównując ryby złowione latem i jesienią. Sekwencjonowanie metodą Illumina wykazało obecność czterech dominujących gromad w przewodzie pokarmowym: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*, które stanowiły około 90% wszystkich sklasyfikowanych bakterii w przewodach pokarmowych. Wykazano istotnie statystycznie różnice w zawartości procentowej bakterii z rodzin *Desulfobulbaceae* i *Chthoniobacteraceae* pomiędzy linami z jeziora i stawu podczas lata, jednakże nie wykazano istotnie statystycznych różnic pomiędzy tymi rodzinami w próbkach pobranych jesienią. Zawartość procentowa *Alphaproteobacteria* w przewodach pokarmowych ryb pochodzących ze stawu była istotnie mniejsza podczas lata w porównaniu do ryb z tego samego środowiska podczas jesieni. W przypadku ryb pochodzących z jeziora zawartość procentowa *Gammaproteobacteria* w przewodach pokarmowych była istotnie większa podczas lata. Wśród ryb pochodzących z jeziora zaobserwowano wyższe wartości indeksów Shannon, Chao1 (wskaźniki bioróżnorodności), a także ilość gatunków bakterii niż w przypadku ryb pochodzących ze stawu. Analiza PCoA wykazała większe zróżnicowanie mikroflory jelitowej spowodowane domestykacją niż sezonowością. Otrzymane wyniki sugerują, że domestykacja jest głównym czynnikiem kształtującym strukturę mikrobiomu przewodu pokarmowego.

*Badania finansowane z funduszy Narodowego Centrum Badań (NCN).
Nr. UMO-2017/25/N/NZ9/00064*

The influence of environmental conditions on the structure of the digestive tract microbiome (*Tinca tinca* L.)

Tench (*Tinca tinca* L.) is one of the most valued species of the *Cyprinidae*. This species is commercially important and has been intensively domesticated in recent years. A number of studies conducted in recent years have shown that the gastrointestinal microbiome plays an important role in the proper functioning of the host. Thus, to investigate the domestication impact on the microbiome structure, two fish populations were examined: wild tench living in a lake and tench living in a pond in

a semi-intensive fish farm. In addition, the effect of seasonality on fish gut microbiome was determined by comparing fish caught in summer and autumn. Illumina sequencing show that in the gut microbiome of all fish, the most abundant phylum was *Proteobacteria*, followed by *Firmicutes*, *Bacteroidetes* and *Actinobacteria*. Together, these phyla comprised up to 90% of the microbial communities. The abundance of *Desulfobulbaceae* and *Chthoniobacteraceae* differed significantly between lake and pond fish in summer, but not in autumn. In pond tench, *Alphaproteobacteria* abundance was significantly lower in summer than in autumn. In lake tench, the abundance of *Gammaproteobacteria* was significantly higher in summer. Mean Shannon, Chao1 indices and observed OTU's indicated that microbial biodiversity was greater in the gut of lake fish than in that of pond fish. Principal coordinate of analysis revealed that domestication influence the structure of fish gut microbiome more significantly than year season. Thus, obtained results suggest that domestication is the main factor in determining gut microbiome structure in tench.

Study financed by the National Science Centre (Poland) under project no. UMO-2017/25/N/NZ9/00064

Porównanie identyfikacji wybranych szczepów bakterii w oparciu o technikę MALDI-TOF MS i metody biochemiczne

Krzysztof Frączek, Karol Bulski

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

Celem przeprowadzonych badań było porównanie możliwości identyfikacji wybranych szczepów bakterii, wyizolowanych z powietrza zakładów przetwórstwa surowców roślinnych, z użyciem spektroskopii masowej MALDI-TOF MS oraz rutynowo stosowanych metod biochemicznych. Szczegółowa analiza jakościowa bakterii zarówno techniką MALDI-TOF MS, jak i metodami biochemicznymi pozwoliła na ich przyporządkowanie do szczebla rodzaju i/lub gatunku. W oparciu o metody biochemiczne, spośród wytypowanych do badań siedmiu szczepów bakterii, cztery z nich zidentyfikowano do gatunku, a w przypadku trzech pozostałych szczepów oznaczono je do rodzaju. Zastosowanie techniki MALDI-TOF MS umożliwiło zidentyfikowanie do gatunku wszystkich siedmiu wybranych szczepów bakteryjnych. Różnica w identyfikacji dotyczyła trzech szczepów, zidentyfikowanych przy pomocy metod biochemicznych do rodzaju: *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp. i *Pantoea* spp., podczas gdy szczepy te, w oparciu o spektrometrię masową, zostały zidentyfikowane do gatunku: *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus cohnii* i *Pantoea agglomerans*. Przeprowadzone badania potwierdziły praktyczną przydatność zarówno techniki MALDI-TOF MS, jak i metod biochemicznych do identyfikacji szczepów bakterii, izolowanych z powietrza.

Comparison of identification of selected bacterial strains based on MALDI-TOF MS technique and biochemical methods

The aim of the study was to compare the possibility of identification of selected bacterial strains, isolated from the air of plant materials processing plants, using MALDI-TOF MS mass spectrometry technique and routine biochemical methods. Detailed qualitative analysis of bacteria using the MALDI-TOF MS technique and biochemical methods allowed for their assignment to the level of genus and/or species. Based on biochemical methods, from seven bacterial strains selected for testing, four of them were identified to the level of species, and in the case of the other three strains they were identified to the level of genus. By using the MALDI-TOF MS technique it was possible to identify all seven selected bacterial strains to the level of species. The difference in identification concerned three strains, identified by biochemical methods for the level of genus: *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp. and *Pantoea* spp., whereas these strains, based on mass spectrometry, were identified to the following species: *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus cohnii* and *Pantoea agglomerans*. The study confirmed the practical use of MALDI-TOF MS technique and biochemical methods for the identification of bacterial strains isolated from the air.

Ocena wpływu wieloletniego stosowania bezorkowego systemu uprawy roli na zmiany wybranych parametrów jakości gleby

Anna M. Gajda¹, Ewa A. Czyż²

¹Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy; ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; e-mail: ag@iung.pulawy.pl

²Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Zelwerowicza 8b, 35-601 Rzeszów; e-mail: ewac@ur.edu.pl

Celem badań było określenie zmian w środowisku glebowym związanych z oddziaływaniem bezorkowego systemu uprawy roli na zmiany w różnorodności drobnoustrojów i aktywności enzymatycznej w glebie pod pszenicą ozimą w stosunku do systemu opartego na orce pługiem. Badania (2015-2018) przeprowadzono w oparciu o wieloletnie pola doświadczalne zlokalizowane w RZD IUNG-PIB w Grabowie (woj. mazowieckie). Glebę analizowano, stosując metody standardowe oraz dostępne techniki molekularne. Analizy statystyczne (ANOVA i Statistica ver. oprogramowanie 10.0, Stat. Soft Inc., Tulsa, OK, USA) wykazały istotność różnic na poziomie $P \leq 0,05$. Wykazano, że w glebie poddanej wieloletniej uprawie bezorkowej zachodzą korzystne zmiany w jakości środowiska glebowego w oparciu o większą pulę biomasy drobnoustrojów i aktywność enzymatyczną oraz wyższą aktywność metaboliczną drobnoustrojów (BIOLOG® EcoplatesTM), a także bardziej zróżnicowane ilości wyizolowanego z gleby DNA, w porównaniu do systemu płuznego.

Badania sfinansowano częściowo z Programu Badawczego Wieloletniego IUNG-PIB Zadanie 1.3 i 1.4 oraz Statutowego Programu Badawczego IUNG 2.26 i 2.38 oraz WBR/KGCHŚiH/DS.5/2013-2019

Assessment of the effects of long-term no-tillage system use on changes of some parameters of soil quality

The aim of the research was to assess changes in diversity and activity of soil microbial communities related to the effects of no-tillage system in comparison to the tillage system with ploughing. Research (2015-2018) was conducted on the long-term experimental fields at the ES of IUNG-PIB in Grabów (Mazovian voivodeship). Soil analysis were made using both standard and molecular-base methods. Statistical analysis (ANOVA and Statistica ver. 10.0 software, Stat. Soft Inc., Tulsa, OK, USA) showed significant differences at $P \leq 0.05$. The results showed that no-tillage system contributed beneficially changes in soil environment which was reflected in the bigger size of soil microbial biomass pool, higher enzymatic activity, and metabolic diversity (BIOLOG® EcoplatesTM), and more diverse quantities of soil DNA then under the tillage system with mouldboard plough.

The research was supported partly by Multiannual IUNG-PIB Research Programmes 1.3 and 1.4 and Statute Research Programmes IUNG 2.26 and 2.38 and WBR/KGCHŚiH/DS.5/2013-2019

Wpływ dodatku sulfonianu-2-bromoetanu na beztlenowy metabolizm społeczności mikroorganizmów

Weronika Goraj¹, Anna Pytlak¹, Anna Szafranek-Nakonieczna¹, Agnieszka Sujak², Agnieszka Kuźniar¹, Cezary Polakowski³, Adam Kubaczyński³, Andrzej Bieganowski³, Wiesław Ignacy Gruszecki⁴, Zofia Stępniewska¹

1. Department of Biochemistry and Environmental Chemistry, The John Paul II Catholic University of Lublin
2. Department of Molecular Biophysics, University of Life Sciences in Lublin
3. Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences
4. Department of Biophysics, Institute of Physics, Maria Curie-Skłodowska University in Lublin

Sulfonian-2-bromoetanu (BES) jest selektywnym inhibitorem metanogenezy. Informacje na temat jego degradacji w warunkach anaerobowych, z uwzględnieniem grup mikroorganizmów odpowiedzialnych za ten proces pozostają w znacznej mierze nieznane. W pracy analizie poddano skład i aktywność społeczności mikroorganizmów występujących w węglach kamiennych i brunatnych. Na podstawie długoterminowych inkubacji (około 900 dni) wykazano, iż obecność 10 mM BES modyfikuje metabolizm i skład ww. mikrobiomów. W porównaniu do prób kontrolnych, atmosfera inkubacji zawierająca węgle wzbogacone o BES zawierała do 2 razy więcej CO₂, co wskazuje na intensyfikację przemian metabolicznych. Ponadto, w inkubacjach węgla z dodatkiem BES, odnotowano wzrost udziału mikroorganizmów należących do *Gammaproteobacteria* (ponad 30%) a także *Synergistia*, *Clostridia* i *Bacilli*, *Alphaproteobacteria*, *Nostocophycideae*, *Deltaproteobacteria*, *Actinobacteria*, oraz *Anaerolineae*, co może wskazywać na wykorzystanie BES jako źródła węgla bądź akceptor elektronów. Degradację BES analizowano na podstawie widm FTIR.

Badania finansowane w ramach projektu NCN 2015/17/B/NZ9/01662)

The influence of 2-bromoethanosulfonate on anaerobic microbial metabolism

2-bromoethane sulfonate (BES) is a selective inhibitor of methanogenesis. Information on its degradation under anaerobic conditions, including groups of microorganisms responsible for this process, remain largely unknown. In the work, the composition and activity of the community of microorganisms occurring in brown and hard coals were analyzed. On the basis of long-term incubations (about 900 days), the presence of 10 mM BES has been shown to modify the metabolism and composition of the above microbiomes. Compared to controls, the incubation atmosphere containing BES-enriched coals contained up to 2 times more CO₂, which indicates the intensification of metabolic processes. In addition, in the co-incubation of coals with BES, an increase in the proportion of *Gammaproteobacteria* (over 30%) as well as *Synergistia*, *Clostridia*, *Bacilli*, *Alphaproteobacteria*, *Nostocophycideae*, *Deltaproteobacteria*, *Actinobacteria* and *Anaerolineae* was noted, which may indicate the use of BES as a carbon source or electron *acceptor* by these microorganisms. The degradation of BES was investigated using FTIR spectroscopy.

Investigations was supported by the National Science Centre, project no. 2015/17/B/NZ9/01662)

Zróżnicowanie genetyczne szczepów *Escherichia coli* wyizolowanych od krów z objawami *mastitis*

Jolanta Kutkowska, Ewelina Czajka, Jerzy Wielbo, Teresa Urbanik-Sypniewska

Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Instytut Biologii i Biotechnologii UMCS

Pałeczki *Escherichia coli* są jednym z głównych patogenów pochodzenia środowiskowego (obok *Klebsiella* i *Enterobacter*) wywołujących ostre zapalenia sutka u bydła (*mastitis*) zwane *colimastitis*. Jak dotąd nie określono specyficznego patotypu *E. coli* wywołującego *mastitis*. Szczepy izolowane z przypadków klinicznych charakteryzują się dużą różnorodnością fenotypową i zmiennością genotypową, co potwierdza środowiskowe pochodzenie tych izolatów.

Celem pracy było określenie profili oporności na antybiotyki szczepów *E. coli* krów z objawami *mastitis* oraz częstości występowania genów wirulencji.

Obecność genów kodujących czynniki wirulencji *papC*, *iuc*, *irp2*, *iss* oraz *ehlyA* określono za pomocą metody PCR. Oporność na antybiotyki sprawdzono metodą dyfuzyjno-krążkową wg zaleceń EUCAST.

Wszystkie badane szczepy były odporne na ampicylinę oraz wrażliwe na cefepim i gentamycynę. 80% izolatów była oporna na amoksycylinę, a 20% na amoksycylinę w połączeniu z kwasem klawulanowym. Najmniej szczepów (>20%) było opornych na ceftazydym, tetracyklinę, streptomycynę i trimetoprim.

U 80% szczepów potwierdzono obecność genów *iss* (zwiększona oporność na działanie dopełniacza), a u 60% geny *papC* oraz *iuc* i *irp2* kodujących odpowiednio; fimbrie determinujące adhezję do nabłonka oraz system pobierania żelaza. W żadnym z izolatów nie wykryto genu enterohemolizyny *ehlyA*.

Genetic diversity of *Escherichia coli* strains isolated from bovine *mastitis*

Escherichia coli along with *Klebsiella* and *Enterobacter* is one of the main pathogens of environmental origin causing acute mastitis in cattle (*mastitis*) called *colimastitis*. So far, no specific *E. coli* pathotype for bovine *mastitis* has been identified. Strains isolated from clinical cases are characterized by high phenotypic diversity and genotypic variability, which confirms the environmental origin of these isolates.

The aim of this study was to determine antibiotic resistance profiles of *E. coli* strains isolated from cows presenting mastitis symptoms and the prevalence of virulence genes.

The presence of genes encoding virulence factors *papC*, *iuc*, *irp2*, *iss* and *ehlyA* was determined by the PCR method. The antibiotic resistance pattern were assessed using the disk diffusion method according to EUCAST recommendation.

All tested strains were resistant to ampicillin and sensitive to cefepime and gentamicin. Eighty percent of the isolates were resistant to amoxicillin, 20% to the combination of amoxicillin and clavulanic acid. The smallest percentage of strains (>20%) were resistant to ceftazidime, tetracycline, streptomycin and trimethoprim.

The presence of *iss* genes (increased complement resistance) was confirmed in 80% of the isolates and the presence of the *papC*, *iuc* and *irp2* genes encoding; fimbriae-dependent adhesion to the epithelium and iron uptake system in 60% of the strains, respectively. The enterohemolysin gene *ehlyA* was not detected in any of the isolates.

Identyfikacja i charakterystyka funkcjonalna galaktozylotransferazy PssJ zaangażowanej w biosyntezę egzopolisacharydu *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*

Małgorzata Marczak, Kamil Żebracki, Magdalena Wójcik,
Piotr Koper, Paulina Chmiel, Andrzej Mazur

Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie
Sklodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Bakterie *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* produkują egzopolisacharyd (EPS) zbudowany z reszt glukozy, kwasu glukuronowego i galaktozy w stosunku molowym 5 : 2 : 1. Dotychczasowe badania wykazały, że większość genów kluczowych dla syntezy, modyfikacji i eksportu EPS znajduje się w chromosomowym regionie Pss-I. W prezentowanej pracy badano funkcję genu *pssJ*. Skonstruowano mutanta delecyjnego $\Delta pssJ$ i wykazano, że produkuje on EPS pozbawiony terminalnej galaktozy. Dostarczenie genu *pssJ* *in trans* przywracało aktywność galaktozylotransferazy. Określono wpływ mutacji *pssJ* na produkcję LPS, aktywność symbiotyczną, ruchliwość oraz wrażliwość szczepu na czynniki stresowe. Znaczenie PssJ w syntezie EPS i przypuszczalne miejsce w hipotetycznym kompleksie glikozylotransferaz przedstawiono w kontekście wyników analiz lokalizacji subkomórkowej oraz oddziaływania tego białka z innymi glikozylotransferazami *R. leguminosarum*.

Badania sfinansowano ze środków projektu NCN OPUS nr 2017/27/B/NZ9/01849

Identification and functional characterisation of PssJ galactosyltransferase involved in biosynthesis of exopolysaccharide in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*

Rhizobium leguminosarum bv. *trifolii* produces exopolysaccharide (EPS) composed of glucose, glucuronic acid and galactose residues at a molar ratio 5 : 2 : 1. Previous studies have shown that the majority of genes involved in synthesis, modification and export of EPS are located in the chromosomal Pss-I region. Presented study investigated the function of *pssJ* gene. $\Delta pssJ$ deletion mutant was constructed and was shown to produce EPS devoid of the terminal galactose. *In trans* delivery of the *pssJ* gene restored galactosyltransferase activity. The impact of *pssJ* mutation on the LPS production, symbiotic activity, motility and stress sensitivity was shown. The postulated role of PssJ in the EPS “glycosyltransferase complex” was discussed in the light of the results of investigating the subcellular localization and protein-protein interactions with other glycosyltransferases in *R. leguminosarum*.

This work was supported by the NCN OPUS grant no. 2017/27/B/NZ9/01849

Glikozylotransferazy zaangażowane w biosyntezę egzopolisacharydu *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*: lokalizacja komórkowa i mapa oddziaływań

Małgorzata Marczak, Kamil Żebracki, Dominika Nowak,
Kamila Talarek, Andrzej Mazur

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

Egzopolisacharyd (EPS) produkowany przez rizobia jest jednym z czynników decydujących o specyficzności i produktywności symbiozy z roślinami bobowatymi. EPS jest syntetyzowany przez białka szlaku Wzx/Wzy-zależnego, w którym indywidualne powtarzające się podjednostki powstają w połączeniu z tzw. kotwicą lipidową w błonie wewnętrznej dzięki aktywności glikozylotransferaz (GT). Dane dotyczące wybranych glikozylotransferaz *Rhizobium leguminosarum* ograniczały się dotąd do potwierdzenia ich udziału w biosyntezie EPS lub przewidywania funkcji na podstawie podobieństwa sekwencji. Nieznane są szczegóły dotyczące aktywności, specyficzności, lokalizacji komórkowej czy też wzajemnych oddziaływań pomiędzy glikozylotransferazami oraz ich interakcji z innymi białkami. Glikozylotransferazy, których udział w biosyntezie EPS potwierdzono na drodze mutagenyzy poddano analizie oddziaływań w bakteryjnym systemie dwuhybrydowym oraz badaniu lokalizacji subkomórkowej. Prezentowane wyniki stanowią część projektu, którego celem jest próba scharakteryzowania hipotetycznego „kompleksu glikozylotransferaz” EPS *R. leguminosarum* bv. *trifolii*.

Badania sfinansowano ze środków projektu NCN OPUS nr 2017/27/B/NZ9/01849

Glycosyltransferases involved in exopolysaccharide synthesis in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*: subcellular localization and interaction network

Exopolysaccharide (EPS) produced by rhizobia is one of the factors determining the specificity and productivity of their symbiosis with legumes. EPS is synthesized by the proteins of the Wzx/Wzy-dependent pathway, in which individual polysaccharide subunits are synthesized on a lipid anchor in the inner membrane due to the activity of glycosyltransferases (GT). To date, information concerning selected glycosyltransferases in *Rhizobium leguminosarum* have been limited to confirming their participation in EPS synthesis or function predicted based on sequence similarity. Details regarding their activity, specificity, subcellular localization and interactions between glycosyltransferases and with other proteins are not available. Glycosyltransferases, whose participation in EPS biosynthesis was confirmed through mutagenesis were tested for protein-protein interactions by means of the bacterial two hybrid system and their localization in the cell. Presented results are part of the project, the aim of which is to attempt to characterize the hypothetical “complex of EPS glycosyltransferases” in *R. leguminosarum* bv. *trifolii*.

This work was supported by the NCN OPUS grant no. 2017/27/B/NZ9/01849

Przynależność gatunkowa i aktywność metaboliczna szczepów *Mortierella antarctica*

¹Ewa Ozimek, ¹Jolanta Jaroszuk-Ściśeł, ¹Artur Nowak, ²Justyna Bohacz,
²Teresa Kornilłowicz-Kowalska, ³Agnieszka Hanaka, ¹Renata Tyśkiewicz

¹Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii,

³Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii i Biochemii,

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

²Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, Pracownia Mikologiczna,
Wydział Agrobiotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Identyfikację gatunkową dwóch grzybowych 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 oceniano w mikrokulturach, w których brano pod uwagę: kształt i wielkość trzonek zarodnikowych, zarodni i zarodników, obecność i morfologię chlamydospor. Identyfikacja gatunkowa szczepów MA DEM4 i MA DEM10 potwierdzona analizą ITS1, ITS4 rRNA wykazała, że otrzymane sekwencje nukleotydów charakteryzowały się 100% podobieństwem i pokryciem sekwencji do gatunku *Mortierella antarctica*.

Profile metaboliczne wykonane z wykorzystaniem systemu Biolog FF Microplate dla obydwu szczepów były bardzo podobne. MA DEM4 i MA DEM10 intensywnie katabolizowały substraty z grupy monosacharydów oraz kwasów karboksylowych i ketokwasów nie wykazując zdolności do rozkładu związków należących do grupy glikozydów i alkoholi cukrowych.

Badania częściowo finansowano z projektu NCN Miniatura 1 2017/01/X/NZ9/00837

The taxonomic classification and metabolic activity of *Mortierella antarctica* strains

The morphological identification of pure fungal 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, colour (obverse and reverse), structure (the presence of concentric petals or stipes). The microscopic features were conducted in microcultures, we considered the phenotypic traits: shape and size of sporangiophores, sporangia and sporangiospores, morphology, presence or absence of chlamydospores. Species identification of MA DEM4 i MA DEM10 strains using ITS1, ITS4 region sequencing method confirmed 100% similarity to *Mortierella antarctica*.

We used the Biolog FF MicroPlate for substrate utilization profile of *Mortierella* strains. MA DEM4 and MA DEM10 represented high catabolic level of compounds belonging to monosaccharides, carboxylic acids and ketoacids, but they did not decompose compounds belonging to the group of glycosides and sugar alcohols.

Wpływ światła na szlaki sygnałowe *Cerrena unicolor*

Anna Pawlik¹, Andrzej Mazur², Jerzy Wielbo², Piotr Koper², Kamil Żebracki²,
Agnieszka Kubik-Komar³, Grzegorz Janusz¹

¹Zakład Biochemii, Instytut Biologii i Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

²Genetyki i Mikrobiologii Ogólnej, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

³Zakład Informatyki, Katedra Zastosowań Matematyki i Informatyki, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy

Celem prezentowanych badań była analiza metabolizmu grzyba *Cerrena unicolor* ze szczególnym naciskiem na szlaki sygnałowe indukowane światłem o różnej długości fali. *Cerrena unicolor* jest pasożytem lub saprofitem zdolnym do rozkładu drewna wielu gatunków drzew liściastych, co więcej jako saprotrof jest w stanie degradować także drewno drzew iglastych. W poprzednich pracach wykazano, że organizm ten dostosowuje swój metabolizm do zmiennych warunków środowiska z uwzględnieniem oświetlenia.

W przeprowadzonych badaniach wykonano analizę transkryptomów *C. unicolor* FCL139 izolowanych z hodowli stacjonarnych na podłożu z trocin jesionowych prowadzonych

w różnych warunkach naświetlenia (światło białe, czerwone, niebieskie, zielone oraz ciemność). Przeprowadzone analizy wykazały, że największy wpływ na zmiany w ekspresji genów kodujących białka szlaków sygnałowych miały światła białe i niebieskie. Poprzez wspomniane szlaki światło wpływało na szereg procesów takich jak: apoptoza, reakcja na stres oksydacyjny, proteoliza, synteza cholesterolu, wchłanianie glukozy, β -oksydacja lipidów, filamentacja.

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

Changes in *Cerrena unicolor* signaling pathways driven by light

The presented study involved the analysis of *Cerrena unicolor* metabolism induced by different light wavelength with emphasis on signalling pathways. *C. unicolor* (mossy maze polypore) is a wood-degrading basidiomycete in the *Polyporaceae* family commonly lives on hardwoods such as *Aesculus*, *Acer*, *Fagus* or *Quercus* and is an aggressive decay organism, which also attacks living trees causing extensive white rot. In our previous research, the influence of light on primary and secondary metabolism of this fungus was investigated. Here we report transcriptomic analysis of *C. unicolor* cultivated in sawdust-based medium in different lightning conditions (dark, white, blue, green and red). The obtained results proved that mainly white and red light changed expression of genes coding for proteins involved in this fungus signalling pathways. Through these pathways light affected several cell processes such as: apoptosis, proteolysis, oxidative stress response, proteolysis, cholesterol synthesis, glucose uptake, β -oxidation of lipids, filamentation.

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

Wpływ światła na syntezę proteaz z *Cerrena unicolor* w hodowli na podłożu z trocin jesionowych

Anna Pawlik¹, Magdalena Jaszek¹, Anita Swatek¹, Magdalena Staszczak¹, Andrzej Mazur², Jerzy Wielbo², Piotr Koper², Kamil Żebracki², Agnieszka Kubik-Komar³, Grzegorz Janusz¹

¹Zakład Biochemii, Instytut Biologii i Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

²Genetyki i Mikrobiologii Ogólnej, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

³Zakład Informatyki, Katedra Zastosowań Matematyki i Informatyki, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy

Cerrena unicolor (gmatkówka szarawa) jest grzybem białej zgnilizny drewna, w warunkach naturalnych rosnącym na żywym i martwym drewnie wielu drzew liściastych tj. jesion, brzoza, klon, kasztanowiec. Pomimo dużego znaczenia ekologicznego i biotechnologicznego wiedza dotycząca wpływu warunków środowiska wzrostu na metabolizm tego grzyba w tym syntezę enzymów proteolitycznych jest dość niewielka. Celem niniejszej pracy była analiza wpływu zmiennych warunków oświetlenia na syntezę proteaz tego grzyba oraz ekspresję genów je kodujących w warunkach hodowli stacjonarnej na podłożu z trocin jesionowych. Badania obejmowały określenie poziomu aktywności zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych proteaz oraz analizę transkryptomów grzyba hodowanego w kontrolowanych warunkach oświetlenia (światło białe, czerwone, niebieskie, zielone oraz ciemność). Przeprowadzone analizy wykazały znaczne zróżnicowanie tak uzyskanych profili enzymatycznych w kulturach *C. unicolor* hodowanych w różnych warunkach oświetlenia jak i różnice ilościowe w ekspresji genów kodujących proteazy.

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

Light influenced synthesis of *Cerrena unicolor* proteases during cultivation on ash sawdust substrate

Cerrena unicolor (mossy maze polypore) is a wood-degrading basidiomycete in the *Polyporaceae* family commonly lives on hardwoods such as *Aesculus*, *Acer*, *Fagus* or *Quercus* and is an aggressive decay organism which also attacks living trees causing extensive white rot. Although its great ecological and biotechnological importance the knowledge related to the effect of environmental growth conditions on fungal metabolism and synthesis of proteolytic enzymes has not been studied in details. Here we report the analysis of the effect of different lighting conditions on proteases synthesis and gene expression in *C. unicolor* cultivated on an ash sawdust substrate. The study involved the determination of extra- and intracellular proteases activities and transcriptomic analysis of the fungus growing in white, blue, green, and red lighting conditions and darkness. The analysis revealed significant diversity of proteases produced by *C. unicolor* as well as quantitative differences in the expression of genes encoding for specific proteases.

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

Sekretom *Cerrena unicolor* jako źródło enzymów o potencjale biotechnologicznym

Justyna Sulej¹, Grzegorz Janusz¹, Magdalena Jaszek¹

¹Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Biochemii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin,

Cerrena unicolor to grzyb podstawkowy (Basidiomycota) powodujący białą zgniliznę, głównie na drzewach liściastych, takich jak buk, kasztan czy klon. Gatunek ten wydziela szerokie spektrum enzymów zewnątrzkomórkowych, zarówno hydrolitycznych, jak i oksydoredukcyjnych o ogromnym znaczeniu biotechnologicznym. Wśród nich szczególnie ważną rolę odgrywają proteazy, lakaza czy dehydrogenaza celobiozowa. Enzymy te, mają potencjalne zastosowanie w wielu procesach przemysłowych, takich jak produkcja żywności, detergentów, fermentacja, przemysł farmaceutyczny, tekstylny i papierniczy.

W przedstawionym opracowaniu, po raz pierwszy, przeanalizowano dynamikę wydzielania oraz wzajemne korelacje pomiędzy enzymami proteolitycznymi a wybranymi enzymami ligninolitycznymi z *C. unicolor* w opisywanych warunkach wzrostu. Hodowla prowadzona była na podłożach z dodatkiem celulozy, a sekretom grzyba, analizowano za pomocą kombinacji metod enzymatycznych, elektroforetycznych oraz LC/MS. Uzyskane wyniki pomogą wyjaśnić mechanizm współdziałania wydzielanych białek stając się jednocześnie wprowadzeniem do badań nad potencjalnym zastosowaniem enzymów w przemyśle opakowaniowym.

Projekt badawczy finansowany z funduszy Narodowego Centrum Nauki w Polsce (grant nr 2015/17/D/NZ9/02066)

***Cerrena unicolor* secretom as a source of enzymes with biotechnological potential**

Cerrena unicolor is a fungus belonging to the phylum Basidiomycota, which causes white rot, mainly on deciduous trees, such as beech, chestnut or maple. This species secretes a wide spectrum of extracellular hydrolytic and oxidative enzymes including biotechnologically important proteases, laccase and cellobiose dehydrogenase. These enzymes have potential applications in a number of industrial processes, such as food, detergent, fermentation, pharmaceutical, textiles and paper industry.

In the presented study, we have explored, for the first time, the dynamics of secretion and correlations between proteases and selected ligninolytic enzymes produced by *C. unicolor* in described culture conditions. The fungal cultures were grown in cellulose-based medium, and its secretome was analyzed by a combination of enzymatic, electrophoretic and LC-MS/MS methods. The obtained results support the explanation of the cooperation mechanism between secreted proteins while becoming a prelude to studies on the potential application of these enzymes in the packaging industry.

The research project funded by the National Science Centre in Poland (grant no. 2015/17/D/NZ9/02066)

Produkty reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę celobiozową jako efektywne czynniki antyoksydacyjne i przeciwdrobnoustrojowe

Justyna Sulej¹, Marcin Grąż¹, Monika Osińska-Jaroszuk¹,
Magdalena Jaszek¹, Anna Pawlik¹

¹Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii,
Zakład Biochemii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin,

Dehydrogenaza celobiozowa (CDH) jest zewnątrzkomórkową oksydoreduktazą, o binarnej strukturze, posiadającą dwa kofaktory: flawinowy i hemowy, usytuowane w oddzielnych domenach. Enzym ten katalizuje reakcję utleniania celobiozy, laktozy, a także wielu innych di- i oligosacharydów połączonych wiązaniami β -1,4-glikozydowymi. Końcowymi produktami reakcji enzymatycznej są odpowiednie kwasy aldonowe (celobionowy i laktobionowy) oraz nadtlenek wodoru. Kwasy powstające w reakcji utleniania celobiozy i laktozy przez CDH wykazują niezwykle wysoki potencjał aplikacyjny, jako substancje przeciwutleniające, chelatujące czy emulgujące. Natomiast nadtlenek wodoru to silny środek przeciwdrobnoustrojowy oraz wybielający.

Celem prezentowanych badań była analiza ilościowa produktów utleniania celobiozy i laktozy przez grzybową CDH. Analizę produktów reakcji enzymatycznej wykonano techniką HPLC oraz chemiluminescencji (H_2O_2), w określonych przedziałach czasowych, dla czterech różnych enzymów. Uzyskane wyniki, świadczą o ścisłej wprostproporcjonalnej korelacji pomiędzy stężeniem produktów reakcji enzymatycznej a ich biologicznymi właściwościami.

*Projekt badawczy finansowany z funduszy Narodowego Centrum Nauki w Polsce
(grant nr 2015/17/D/NZ9/02066)*

The products of cellobiose dehydrogenase catalysis as effective antioxidant and antimicrobial agents

Cellobiose dehydrogenase (CDH) is an extracellular oxidoreductase, with a binary structure, contain two cofactors: flavin and heme located in separate domains. This enzyme catalyses the oxidation of cellobiose, lactose as well as many other di- and oligosaccharides linked by β -1,4-glycosidic bonds. The final products of the enzymatic reaction are the corresponding aldonic (celobionic and lactobionic) acids and hydrogen peroxide. The acids produced in the oxidation of cellobiose and lactose by CDH have a wide range of potential application, such as antioxidant, chelating or emulsifying agents. While H_2O_2 is a strong antimicrobial and bleaching agent.

The aim of the presented research was to quantify the products of cellobiose and lactose oxidation by fungal-derived CDH. Analysis of the enzymatic reaction products was performed by HPLC and chemiluminescence (H_2O_2), in defined time intervals, for four various enzymes. The obtained results indicate a close correlation between the concentration of the enzymatic reaction products and their biological properties.

*The research project funded by the National Science Centre in Poland
(grant no. 2015/17/D/NZ9/02066)*

Analiza porównawcza składu kwasów tłuszczowych w zarodnikach dwudomowego gatunku *Gymnosporangium sabinae*.

Agata Wołczańska¹, Sylwia Wdowiak-Wróbel², Agata Małek², Agata Józefczak², Bożena Kowalczyk², Magda Mamczarz¹, Marta Palusińska-Szyszt².

¹Zakład Botaniki i Mykologii, Instytut Biologii i Biochemii UMCS

²Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii UMCS
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Gymnosporangium sabinae (Dicks.) G. Winter (Pucciniales) jest obligatoryjnym pasożytem roślin drzewiastych. Jest to gatunek dwudomowy i demicykliczny. Tworzy cztery rodzaje zarodników: spermacja i ecjospory (na gruszy) oraz teliospory i bazydiospory (na jałowcu). Gatunek ten jest ważny pod względem ekonomicznym gdyż powoduje straty w sadach i ogrodach przydomowych oraz obniża walory dekoracyjne jałowców sadzonych jako rośliny ozdobne (głównie *Juniperus sabina* L.). Celem badań była jakościowa i ilościowa analiza składu kwasów tłuszczowych wyizolowanych ze spor *Gymnosporangium sabinae* za pomocą chromatografii gazowo-cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC/MS). Do badań wykorzystano ecja (ecjospory i perydium) z liści gruszy oraz telia z pędów jałowca sabińskiego. Badany gatunek charakteryzował się dużą heterogennością kwasów tłuszczowych. Syntetyzował on zarówno kwasy nasycone (C14:0, C15:0, C18:0) jak i jednonienasycone (16:1) oraz wielonienasycone (18:3). Cechą charakterystyczną badanych zarodników była obecność hydroksykwasów o różnej długości łańcucha (2-hydroksy 24:0, 9-hydroksy 18:0, 16-hydroksy 20:1, 22-hydroksy 22:0). Występował tu również rzadko spotykany w przyrodzie kwas z pierścieniem epoxy (9,10 epoxy 18:0). Profil kwasów tłuszczowych może zostać wykorzystany jako ważna cecha diagnostyczna *Gymnosporangium sabinae*.

Comparative analysis of the composition of fatty acids in the spores of the heteroecious species *Gymnosporangium sabinae*

Gymnosporangium sabinae (Dicks.) G. Winter (Pucciniales) is an obligatory parasite of woody plants. It is a heteroecious and demicyclic species. It forms four types of spores: spermatia and aeciospores (on pear) as well as teliospores and basidiospores (on juniper). This species is important in economic terms, as it causes damage to orchards and home gardens and decreases the decorative qualities of junipers planted as ornamental plants (mainly *Juniperus sabina* L.). The aim of the study was to carry out qualitative and quantitative analysis of fatty acids isolated from *Gymnosporangium sabinae* spores using gas-liquid chromatography coupled with mass spectrometry (GLC/MS). The study involved the use of aecia (aeciospores and peridium) from pear leaves and telia from shoots of *Juniperus sabina*. The examined species was characterized by high heterogeneity of the fatty acid profile. It synthesized saturated (C14:0, C15:0, C18:0), unsaturated (16:1), and polyunsaturated (18:3) fatty acids. The characteristic feature of the examined spores was the presence of hydroxy fatty acids with a various length chain (2-hydroxy 24:0, 9-hydroxy 18:0, 16-hydroxy 20:1, 22-hydroxy 22:0). There was also a very rare acid with an epoxy ring (9,10 epoxy 18:0). The fatty acid profile can be used as an important diagnostic feature of *Gymnosporangium sabinae*.

Selekcja szczepów bakterii endofitycznych roślin uprawnych i chwastów w kierunku produkcji deaminazy ACC z wykorzystaniem metody molekularnej i klasycznej techniki płytek agarowych

Małgorzata Woźniak¹, Anna Gałązka¹, Anna Marzec-Grządziel¹, Renata Tyśkiewicz², Jolanta Jaroszuk-Ścisiel²

¹Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, e-mail: m.wozniak@iung.pulawy.pl;

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

Wnętrze tkanek roślin (endosfera) jest dynamicznym środowiskiem w którym zachodzą złożone interakcje pomiędzy mikroorganizmami i roślinami. Niektóre bakterie endofityczne promujące wzrost roślin (PGPE - *Plant Growth Promoting Endophytes*) produkują ważny enzym, deaminazę kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboxylowego (ACC), który reguluje syntezę etylenu przez metabolizowanie ACC (cząsteczka prekursorowa etylenu w roślinach wyższych) z wytworzeniem α -ketomaślanu i amoniaku. Celem niniejszego badania była wstępna selekcja szczepów bakterii produkujących enzym deaminazę ACC z użyciem klasycznej metody płytek agarowych na podłożu zawierającym jako jedyne źródło azotu ACC oraz z użyciem metody molekularnej – amplifikacja genu *acdS* techniką real-time PCR. Materiał badawczy stanowiły 23 szczepy bakterii wyizolowane z endosfery kukurydzy, bobiku, pszenicy, żyta, skrzypu i łopianu (korzeń i łodyga). Na podstawie otrzymanych wyników analizy real-time PCR stwierdzono obecność genu *acdS* u wszystkich badanych szczepów, natomiast na podłożu agarowym z ACC, 5 izolatów nie wykazywało cech wzrostu.

Badania sfinansowano z tematu badawczego 1.21 realizowanego w ramach działalności Statutowej IUNG-PIB oraz tematu UMCS BS-P-11-010-18-2-06

Selection of strains of endophytic bacteria of crop and wild plants towards the production of ACC deaminase using molecular method and classical plate techniques

The plant interior (endosphere) is a dynamic environment of complicated microbe-plant interactions. Certain plant growth promoting endophytes (PGPE) produce enzyme, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase, which regulates ethylene production by metabolizing ACC (a precursor molecule of ethylene in higher plants) into α -ketobutyrate and ammonia. The aim of this study was to pre-select the strains of bacteria that produce the ACC deaminase enzyme using the classic agar plate method on the substrate containing ACC as only the source of nitrogen and using the molecular method - amplification of the *acdS* gene with real-time PCR. The research material consisted of 23 strains of bacteria isolated from the endosphere of maize, horse bean, wheat, rye, horsetail and burdock (root and stem). Based on the obtained results of real-time PCR analysis, the presence of the *acdS* gene was found in all tested strains, while on the agar medium from ACC, 5 isolates did not show any growth characteristics.

This research was supported by the project nr 1.21 (2017 – 2019) the statutory activity of IUNG-PIB in Pulawy and partly by UMCS BS-P-11-010-18-2-06

Charakterystyka mykobioty ryzosfery i endosfery szybko rosnących drzew *Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei*

Małgorzata Woźniak¹, Anna Gałązka¹, Jarosław Grządziel¹, Magdalena Frąć²

¹Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, e-mail: m.wozniak@iung.pulawy.pl;

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

Paulownia spp. to szybko rosnące drzewo liściaste należące do rodziny Paulowniaceae, które charakteryzuje się wysoką produkcją biomasy i szybkim tempem wzrostu. Niewiele wiadomo na temat oddziaływań drzew *Paulownia* z grzybami w naturalnych ekosystemach. Głównym celem badania było porównanie mykobioty ryzosfery i endosfery gatunku *Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei*. Mykobiotę rośliny i gleby ryzosferowej został scharakteryzowany za pomocą sekwencjonowania metagenomowego fragmentu ITS1 na platformie Illumina MiSeq. Większość grzybowych endofitów korzeniowych sklasyfikowano do Olpidiomycota, podczas gdy większość endofitów liści należała do typu Ascomycota i Basidiomycota. Natomiast w ryzosferze dominowały grzyby zaliczone do Ascomycota, Basidiomycota oraz *Mortierellomycota*.

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

Characteristics of the rhizospheric and endophytic mycobiome of fast growing trees *Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei*

Paulownia spp. are fast-growing deciduous trees that belong to the Paulowniaceae family, which is characterized by high biomass production and a fast growth rate. Very little is known about *Paulownia* interactions with the fungal communities in natural ecosystems. The main goal of this study was to compare the rhizospheric and endophytic mycobiome of *Paulownia elongata* and *Paulownia fortunei*. The mycobiome of the plant and rhizosphere soil were characterized by metagenomic sequencing of the ITS1 fragment on the Illumina MiSeq platform. Most fungal root endophytes were classified to Olpidiomycota, while the majority endophytes of leaves were Ascomycota and Basidiomycota. Moreover, in the rhizosphere, fungi classified as Ascomycota, Basidiomycota and *Mortierellomycota* dominated.

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

Różnorodność fenotypowa mutantów delecyjnych w genach glikozylotransferaz odpowiedzialnych za biosyntezę egzopolisacharydu *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* TA1

Magdalena Wójcik, Małgorzata Marczak, Kamil Żebracki,
Aleksandra Nurzyńska, Andrzej Mazur

Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-031 Lublin

Rizobia to glebowe bakterie, które tworzą symbiozę z roślinami bobowatymi (*Fabaceae*). Nawiązanie efektywnej symbiozy skutkuje powstaniem brodawek na korzeniach lub łodygach tych roślin, w których bakterie wiążą azot atmosferyczny. Jednym z kluczowych sygnałów symbiotycznych jest bakteryjny egzopolisacharyd (EPS), który pełni także szereg funkcji ekologicznych np. związanych z wychwytem substancji odżywczych, adhezją do różnych powierzchni oraz funkcję ochronną. EPS *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* TA1 (RtTA1) jest polimerem ośmiocukrowych podjednostek zbudowanych z glukozy, kwasu glukuronowego i galaktozy. Za biosyntezę jednostki podstawowej EPS odpowiada hipotetyczny kompleks enzymatyczny złożony z wielu glikozylotransferaz. W tej pracy uzyskano delecje genów kodujących glikozylotransferazy tj. *pssA*, *pssD*, *pssE*, *pssI*, *pssJ* i *pssH* oraz przeprowadzono komplementację genetyczną tych mutacji. Mutanty oraz pochodne po komplementacji wykazywały duże zróżnicowanie fenotypowe związane z biosyntezą EPS, symbiozą, ruchliwością i odpowiedzią na warunki stresowe.

Badania sfinansowano ze środków projektu NCN OPUS nr 2017/27/B/NZ9/01849

Phenotypical diversity of deletion mutants in the genes coding for glycosyltransferase engaged in biosynthesis of exopolysaccharide in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* TA1

Rizobia are soil bacteria with the ability to form a symbiosis with plants from the *Fabaceae* family. Establishment of a successful symbiosis results in the formation of nitrogen-fixing nodules on roots or stems of those plants. One of the key molecular signals in this process is the bacterial exopolysaccharide (EPS), which also has other ecological functions, including nutrient acquisition, attachment to abiotic surfaces, and protection against stresses. *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* TA1 (RtTA1) EPS is a polymer composed of octamers built of one galactose, two glucuronic acid, and five glucose residues. The biosynthesis of the repeating unit of EPS corresponds to a hypothetical enzyme complex composed of many glycosyltransferases. In this work, deletion mutants in genes coding for glycosyltransferases, i.e. *pssA*, *pssD*, *pssE*, *pssI*, *pssJ*, and *pssH* were obtained and genetic complementation of these mutations was carried out. Mutants and complementation derivatives demonstrated large phenotypical diversity related to the biosynthesis of EPS, symbiosis, motility, and response to stress conditions.

This work was supported by the NCN OPUS grant no. 2017/27/B/NZ9/01849

Konstrukcja mutantu w genie *pssV* kodującym hipotetyczny element szlaku transmisji sygnałów w *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*

Kamil Żebracki, Małgorzata Marczak, Magdalena Wójcik, Andrzej Mazur

Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-031 Lublin

Rhizobium leguminosarum bv. *trifolii* TA1 (RtTA1) to glebowe bakterie tworzące brodawki na korzeniach koniczyny (*Trifolium* spp.), w których zachodzi wiązanie azotu atmosferycznego. Nawiązanie efektywnej symbiozy jest wieloetapowym procesem, a jednym z kluczowych sygnałów decydujących o jego efektywności i specyficzności jest egzopolisacharyd (EPS) produkowany i wydzielany przez bakterie na zewnątrz komórki. Geny *pss* (ang. *polysaccharide synthesis*) warunkujące biosyntezę EPS są

rozproszone w różnych częściach genomu RtTA1. Największy region Pss-I, zlokalizowany w chromosomie, obejmuje ponad dwadzieścia genów odpowiedzialnych za syntezę, polimeryzację i eksport EPS. Celem pracy była charakterystyka molekularna genu *pssV*. ORF *pssV* o długości 891 pz, kodujący hipotetyczną kinazę z motywem AAK (ang. *amino acid kinase*), zmapowano w 5'-końcowej części regionu Pss-I pomiędzy skupiskiem genów kodujących glikozylotransferazy i enzymy modyfikujące EPS, a hipotetycznymi genami o nieprzebadanej dotąd funkcji. Kontekst genomowy *pssV* wskazuje, że produkt tego genu może być częścią systemu transmisji sygnałów. Wykorzystując system *Cre-loxP* uzyskano delecyjnego mutantu *pssV* oraz przeprowadzono komplementację genetyczną mutacji. Mutanta i szczep po komplementacji mutacji poddano wstępnej analizie fenotypu pod kątem udziału genu *pssV* w biosyntezie EPS, symbiozie i odpowiedzi na warunki stresowe.

Construction of a deletion mutant in the *pssV* gene coding for a hypothetical component of the signal transduction pathway in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*

Rhizobium leguminosarum bv. *trifolii* TA1 (RtTA1) are soil bacteria able to induce nitrogen-fixing nodules on clover (*Trifolium* spp.). Establishing an effective symbiosis is a multistage process, and one of the key determinants of its effectiveness and specificity is bacterial exopolysaccharide (EPS). Polysaccharide synthesis (*pss*) genes are dispersed throughout the RtTA1 genome. The largest, chromosomally located cluster of EPS biosynthesis genes named Pss-I, comprise >20 genes. The aim of this work was to characterize the *pssV* gene. The 891 bp *pssV* ORF, codes for a hypothetical kinase with an amino acid kinase (AAK) motif, was mapped at the 5'-end of the Pss-I region between the clusters of genes encoding glycosyltransferases and EPS modifying enzymes, and hypothetical genes of the previously unknown function. The *pssV* genomic context suggest that it can be part of a signal transduction pathway. With the use of the *Cre-loxP* system, the *pssV* deletion mutant was obtained. Then, strain with the genetic complementation of the mutation was constructed. Obtained strains were subjected to preliminary phenotype analyses to reveal the role of *pssV* gene in EPS biosynthesis, symbiosis, and response to stress conditions.



Metagenomika
w mikrobiologii środowiskowej



Różnorodność bakterii w glebie z dodatkiem tebukonazolu

Małgorzata Baćmaga¹, Jadwiga Wyszowska¹, Jan Kucharski¹

¹Katedra Mikrobiologii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Celem badań była ocena oddziaływania tebukonazolu aplikowanego do gleby (głina piaszczysta o pH 7,0) w zróżnicowanych ilościach (0,00; 0,01; 0,02; 0,1; 0,5; 1,0 i 10 mg kg⁻¹ s.m. gleby) na strukturę zespołów bakterii. Analizę metagenomiczną wykonano metodą sekwencjonowania następnej generacji (NGS) wykorzystując sekwentator MiSeq (Illumina). Do amplifikacji regionu genu 16S rRNA bakterii zastosowano specyficzne sekwencje primerów: 34F oraz 785R. Dominującym taksonem w randze *Phylum* we wszystkich próbkach gleby były *Proteobacteria* (stanowiły od 41,0% do 50,8% całej puli OTU), kolejno *Firmicutes* (od 12,6% do 26,9% całej puli OTU) i *Actinobacteria* (od 10,5% do 21,0% całej puli OTU). Najrzadziej w glebach pojawiały się *Chloroflexi*, których liczba OTU wahała się od 1,6% (gleba z dodatkiem tebukonazolu w ilości 10 mg kg⁻¹) do 3,9% (gleba z dodatkiem tebukonazolu w ilości 0,01 mg kg⁻¹). W glebie kontrolnej i z dodatkiem tebukonazolu dominowały bakterie z klasy *Alphaproteobacteria* oraz *Bacilli*. Najliczniej występującym rodzajem, zarówno w glebie kontrolnej, jak i z tebukonazolem, był *Kaistobacter* oraz *Bacillus*. We wszystkich próbkach gleby stwierdzono obecność *Bacillus flexsus*. Z kolei *Bacillus foramini* był charakterystyczny dla gleby poddanej presji tebukonazolu.

Bacteria biodiversity in tebuconazole-supplemented soil

This study analysed the effect of tebuconazole applied to soil (sandy loam, pH 7.0) in varied amounts (0.00; 0.01; 0.02; 0.1; 0.5; 1.0 and 10 mg kg⁻¹ DM of soil) on the structure of bacterial communities. A metagenomics analysis was performed with the next generation sequencing method (NGS) using a MiSeq sequenator (Illumina). Specific primer sequences (34F and 785R) were used for the amplification of the bacterial 16S rRNA gene region. In *Phylum* rank, the dominating taxa in all soil samples were *Proteobacteria* (from 41.0% to 50.8% of the total OTU pool), *Firmicutes* (from 12.6% to 26.9% of the total OTU pool) and *Actinobacteria* (from 10.5% to 21.0% of the total OTU pool). *Chloroflexi*, whose OTU number ranged from 1.6% (10 mg kg⁻¹ tebuconazole supplemented soil) to 3.9% (0.01 mg kg⁻¹ tebuconazole supplemented soil) were the scarcest in the soil. *Alphaproteobacteria* and *Bacilli* dominated in the control soil and in the tebuconazole supplemented soil. *Kaistobacter* and *Bacillus* were the most abundant genera in the control soil and in the tebuconazole-supplemented soil. Although the presence of *Bacillus flexsus* was demonstrated in all soil samples, *Bacillus foramini* was characteristic of the tebuconazole-supplemented soil.

Zmienność mikrobiomu *Azolla filiculoides* L. w warunkach stresu metalami ciężkimi

Artur Banach¹, Agnieszka Kuźniar¹, Jarosław Grządziel²

¹ Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, Konstantynów II, 20-708, Lublin

² Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Krańcowa 8, Centrum INCBR, 24-100, Puławy

Celem pracy było określenie struktury mikrobiomu paproci wodnej *Azolla filiculoides* L. eksponowanej na metale ciężkie: Pb(II), Cd(II), Cr(VI), Ni(II), Au(III) oraz Ag(I). Analizę różnorodności mikrobiomu przeprowadzono stosując Sekwencjonowanie Nowej Generacji (NGS) wykorzystując technologię MiSeq 2000 (Illumina) Nieksonowany mikrobiom *A. filiculoides* był zdominowany przez przedstawicieli Proteobacteria: α - (*Brevundimonas* 63,2%, *Asticcacaulis* 8,4%, *Rhizobium* 26,4%), β - (*Comamonas* 0,25%) i γ -Proteobacteria (*Stenotrophomonas* 0,87%); Firmicutes stanowiły 0,29%. Ekspozycja na metale wpłynęła istotnie na jego różnorodność – zanotowano spadek udziału Proteobacteria i wzrost Actinobacteria (Cd(II) 1,45%), Bacteroidetes (Au(III) 2,92%), Euryarchaeota (Cr(VI) 0,25%) oraz Firmicutes (Cr(VI) 1,36%). Stwierdzono spadek udziału *Brevundimonas*, wzrost *Rhizobium* przy Pb(II) (+7%), Cd(II) (+48%) oraz Ag(I) (+7%), zaś spadek przy Cr(VI) i Au(III) o odpowiednio 12,7 i 6,7%. Stwierdzono dominację *Burkholderia*, *Methyloversatilis*, *Acinetobacter* i *Pseudomonas*. Udział *Dyella* był największy w przypadku Ni(II) oraz Au(III) wynosząc odpowiednio 13 i 28%. Można stwierdzić, iż ekspozycja *A. filiculoides* na badane metale przyczyniła się do wzrostu różnorodności mikrobiomu.

Variation the microbiome of *Azolla filiculoides* L. under heavy metal stress

The aim of the study was to determine the structure of microbiome of aquatic fern *Azolla filiculoides* L. under exposition to heavy metals: Pb(II), Cd(II), Cr(VI), Ni(II), Au(III) and Ag(I). The analysis of microbiome diversity was performed using Next Generation Sequencing (NGS) tools with the MiSeq 2000 technology (Illumina). Non-exposed microbiome of *A. filiculoides* was dominated by representatives of Proteobacteria: α - (*Brevundimonas* 63.2%, *Asticcacaulis* 8.4%, *Rhizobium* 26.4%), β - (*Comamonas* 0.25%) and γ -Proteobacteria (*Stenotrophomonas* 0.87%); Firmicutes constituted 0.29%. Exposition to metals affected significantly its diversity – a decline of Proteobacteria share and increase the share of Actinobacteria (Cd(II) 1.45%), Bacteroidetes (Au(III) 2.92%), Euryarchaeota (Cr(VI) 0.25%) and Firmicutes (Cr(VI) 1.36%) were noted. A decline by 18-83% of *Brevundimonas* share and the increase of *Rhizobium* for Pb(II) (+7%), Cd(II) (+48%) and Ag(I) (+7%) were stated. In a case of Cr(VI) and Au(III) a decline of 12.7 and 6.7% was recorded. Domination of *Burkholderia*, *Methyloversatilis*, *Acinetobacter* and *Pseudomonas* was recorded. The share of *Dyella* was the highest for Ni(II) and Au(III) – 13 and 28%, respectively. It can be stated that exposition of *A. filiculoides* to studied metals led to the increase of microbiome diversity.

Identyfikacja molekularna bakterii z rodzaju *Listeria* w środowisku produkcyjnym żywności

Barbara Breza-Boruta, Agata Marosz

Katedra Mikrobiologii i Technologii Żywności, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii,
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy

Celem pracy było wykrycie obecności bakterii z rodzaju *Listeria* w środowisku produkcyjnym żywności. Do badań pobierano próbki powietrza metodą impakcyjną oraz wymazy z wybranych punktów wyznaczonych na liniach produkcyjnych zakładu przetwórstwa rybnego. Identyfikację bakterii wykonano zarówno metodami klasycznymi, jak i molekularnymi, w tym genotypowanie - techniką multiplex PCR oraz stopień pokrewieństwa genetycznego - techniką losowej amplifikacji polimorficznych fragmentów DNA.

W badanym bioaerozolu nie stwierdzono obecności pałeczek *Listeria* spp. Natomiast wykryto je w wymazach pobranych z posadzki, kratak ściekowych oraz z rękawic roboczych pracowników linii obróbki wstępnej. Wśród zebranych izolatów przy użyciu techniki PCR oznaczono gatunek *L. monocytogenes*. Ponadto badania molekularne (RAPD, mPCR) potwierdziły bliskie pokrewieństwo kilku szczepów oraz pozwoliły przyporządkować je do I linii filogenetycznej, do której należą chorobotwórcze dla człowieka serotypy *L. monocytogenes*. Obecność tego gatunku bakterii w środowisku produkcyjnym stwarza bezpośrednie zagrożenie dla jakości i bezpieczeństwa zdrowotnego wytwarzanych produktów, a także pracowników zakładu.

Molecular identification of bacteria of genus *Listeria* in a food production environment

The aim of study was to detect presence of *Listeria* spp. in a food production environment. Air samples were collected by the compaction method and swabs from selected points from the production lines at the fish processing plant. The identification of bacteria was made using classical and molecular methods, including multiplex PCR genotyping and degree of genetic similarity - the random amplification of polymorphic DNA fragments.

Presence of *Listeria* spp. was not confirmed in the bioaerosols. However, these bacteria were detected in swabs taken from the floor, drainage grates and workers' gloves of the pre - treatment line. Among taken isolates, species *L. monocytogenes* was determined using PCR techniques. In addition, molecular research (RAPD, mPCR) confirmed genetic similarity between the several *L. monocytogenes* strains and enabled assigning them to the first phylogenetic group, to which belong serotypes pathogenic for a human. Present of these bacteria in food production environment is a direct threat to the quality and health safety of products and the employees of factory.

Znaczenie i skład taksonomiczny Basidiomycota w glebie piaszczystej nawożonej podłożem pieczarkowym

Magdalena Frąć, Karolina Oszust, Jerzy Lipiec, Bogusław Usowicz

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

Gleby piaszczyste należą do jednych z najliczniej występujących gleb na terenie Polski i charakteryzują się niską zawartością materii organicznej. W celu zwiększenia zawartości próchnicy glebowej stosowane są zabiegi polegające na wprowadzaniu do gleb egzogennej materii organicznej, do której można zaliczyć również podłoże po uprawie pieczarek. Odpad ten jest zasobny w materię organiczną, makro- i mikroelementy oraz cechuje się korzystnym stosunkiem C:N. Dlatego też, w regionach uprawy pieczarek, tego typu materiał odpadowy stosowany jest jako nawóz organiczny. Niewiele jest jednak badań dotyczących składu mykobioty występującej w glebie nawożonej podłożem pieczarkowym. Celem badań metataksonomicznych z wykorzystaniem wysokoprzepustowego sekwencjonowania (NGS) było określenie składu grzybów należących do Basidiomycota w glebie nawożonej od ponad dwudziestu lat podłożem po produkcji pieczarek w porównaniu do gleby piaszczystej nienawożonej tym odpadem. Wykazano znaczne różnice w składzie taksonomicznym zbiorowisk grzybów, w tym ponad dwukrotny wzrost operacyjnych jednostek taksonomicznych (OTU) reprezentujących przedstawicieli Basidiomycota w glebie nawożonej podłożem pieczarkowym.

Praca współfinansowana ze środków Unii Europejskiej w ramach programu ramowego w zakresie badań naukowych i innowacji Horyzont 2020. SoilCare – umowa o dofinansowanie: 677407

Significance and taxonomic composition of Basidiomycota in sandy soil fertilized with spent mushroom substrate

Sandy soils are one of the most abundant soils in Poland and are characterized by low content of organic matter. In order to increase the content of humus, treatments involving the introduction of exogenous organic matter (such as spent mushroom substrate - SMS) are applied into the soil. This waste is rich in organic matter, macro- and microelements and is characterized by favorable C:N ratio. Therefore, this type of waste is used as an organic fertilizer. However, there is little research on the composition of mycobiota found in soil fertilized with spent mushroom substrate. The aim of metataxonomic research using high-throughput sequencing (NGS) was to determine the composition of fungi belonging to Basidiomycota in soil fertilized for over 20 years with the spent mushroom substrate compared to not fertilized sandy soil. Significant differences in the taxonomic composition of fungal communities have been determined, including over two-fold increase in operational taxonomic units (OTU) of Basidiomycota representatives in the soil fertilized with SMS.

The study was co-funded by European Union in the frame of HORIZON 2020 Programme, SoilCare project – contract No. 677407

Struktura społeczności bakterii w wodach Wisły

Karolina Furtak¹, Jarosław Grządziel¹, Anna Gałązka¹

¹Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy; ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

Wisła jest najdłuższą rzeką Polski, a jej wody, co jakiś czas zalewają sąsiadujące z nią tereny. Wśród badań dotyczących mikrobiomu wód rzecznych dominują analizy sanitarne mające na celu kontrolę wód pitnych. Najczęściej oznaczanymi bakteriami są *E. coli* oraz bakterie z rodzajów *Enterobacter*, *Citrobacter* i *Klebsiella*. W niniejszym badaniu postanowiliśmy określić skład społeczności bakterii w wodzie z Wisły.

Woda została pobrana z Wisły w miejscowości Janowiec w woj. Lubelskim, z nurtu rzeki w odległości ok. 27 metrów od brzegu do sterylnej pojemnika o pojemności 50 L. W celu analizy społeczności bakterii zastosowano sekwencjonowanie następczej generacji regionu V3/V4 16S rDNA z wykorzystaniem aparatu Miseq (Illumina).

Uzyskano łącznie 88 operacyjnych jednostek taksonomicznych (OTU). Zidentyfikowano 53 rodziny, a w nich 62 różne rodzaje bakterii, z czego 26 nie sklasyfikowano. Dominującymi rodzinami okazały się *Planctomycetaceae* oraz *Xanthomonadaceae*. Poszukując bakterii patogennych zidentyfikowano nielicznych przedstawicieli *Legionella* sp. oraz *Rickettsia* sp. Uzyskane wyniki są zaskakujące, ponieważ powszechnie uważa się, że wody rzeczne są zanieczyszczone mikroorganizmami patogenicznymi.

Badania wykonano w ramach zadania 1.4 Programu Wieloletniego IUNG-PIB 2016-2020: Ocena i kształtowanie bioróżnorodności środowiska glebowego oraz aktywności mikrobiologicznej gleb z uwzględnieniem warunków siedliskowych i systemów gospodarowania. oraz w ramach realizacji dotacji dla młodych naukowców w roku 2018: Wpływ letnich powodzi na zmiany bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikrobiomu wybranych mad rzecznych. finansowanej z MNiSW.

Structure of bacterial community in the water of the Vistula River

The Vistula is the longest river in Poland, and its waters flood neighbouring areas from time to time. Sanitary analyses aimed at the control of drinking water dominate among the studies on river water microbiomes. The most frequently determined bacteria are *E. coli* and bacteria of the genera *Enterobacter*, *Citrobacter* and *Klebsiella*. In this study we decided to determine the composition of the bacterial community in water from the Vistula River.

The next generation sequencing of the V3/V4 16S rDNA region with the use of the Miseq instrument (Illumina) was used to analyse the bacterial community.

A total of 88 operational taxonomic units (OTU) were obtained. 53 families were identified with 62 different types of bacteria, 26 of which were not classified. *Planctomycetaceae* and *Xanthomonadaceae* were the dominant families. When searching for bacteria pathogenic to humans, few representatives of *Legionella* sp. and *Rickettsia* sp. were identified in the water. The results are surprising because river waters are commonly considered to be contaminated with pathogenic microorganisms.

Zmiany w społeczności mikroorganizmów glebowych wywołane zastojem wody

Karolina Furtak¹, Jarosław Grządziel¹, Anna Gałązka¹, Jacek Niedźwiecki²

¹Zakład Mikrobiologii Rolniczej, ²Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

W strukturze mikrobiomu glebowego oraz jego aktywności dochodzi do zmian wywołanych zalewaniem wodą i ubytkiem tlenu. Celem niniejszej pracy była ocena zmian w strukturze mikrobiomu glebowego zachodzących w wyniku letniej powodzi.

Do badań wybrano trzy różne mady rzeczne zlokalizowane w miejscowościach Wojszyn oraz Janowiec w woj. lubelskim. Mady zostały pobrane jako bloki glebowe, umieszczone w pojemnikach, a następnie zalane wodą pobraną z Wisły. Przez 2 tygodnie utrzymywano wodę na poziomie 5 cm nad poziomem gleby. Próbkę pobrano dwukrotnie: po 7 i 14 dniach zastoju wody. Analizy struktury mikrobiomu glebowego dokonano z zastosowaniem sekwencjonowania następnej generacji (Miseq, Illumina).

W świeżych madach rzecznych zidentyfikowano 162 różne rodzaje bakterii, podczas gdy po symulowanej powodzi odnotowano 236 rodzajów. W przypadku społeczności grzybów w świeżych glebach zidentyfikowano 247 rodzajów, zaś po zastoju wody ilość ta zmniejszyła się do 181. Uzyskane wyniki wskazują, że nadmierna wilgotność gleby wywołana symulowaną powodzią wpływa na strukturę mikrobiomu glebowego.

Badania wykonano w ramach zadania 1.4 Programu Wieloletniego IUNG-PIB 2016-2020: Ocena i kształtowanie bioróżnorodności środowiska glebowego oraz aktywności mikrobiologicznej gleb z uwzględnieniem warunków siedliskowych i systemów gospodarowania. oraz w ramach realizacji dotacji dla młodych naukowców w roku 2018: Wpływ letnich powodzi na zmiany bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikrobiomu wybranych mad rzecznych. finansowanej z MNiSW.

Changes in the soil microorganism community as a result of water stagnation

In the structure of the soil microbiome and its activity there are changes caused by flooding with water and oxygen deficiency. The aim of this research was to evaluate changes in the structure of soil microbiome as a result of summer floods.

Three different river muds located in Wojszyn and Janowiec in Lubelskie Voivodeship were selected for the study. The muds were collected as soil blocks, placed in containers and then flooded with water taken from the Vistula River. For 2 weeks water was maintained at the level of 5 cm above the soil level. Samples were taken twice: after 7 and 14 days of water stagnation. The analysis of soil microbiome structure was performed with the use of next generation sequencing (Miseq, Illumina).

In fresh river muds 162 different types of bacteria were identified, while after simulated floods 236 types were recorded. In the case of fungi community, 247 types were identified in fresh soils, and after water stagnation this amount decreased to 181. The obtained results indicate that excessive soil moisture caused by the simulated floods affects the structure of the soil microbiome.

Zmiany aktywności i różnorodności drobnoustrojów w glebie oraz stabilności gleby w różnych systemach produkcji roślinnej

Anna M. Gajda¹, Ewa A. Czyż²

¹ Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy (IUNG-PIB), ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; e-mail ag@iung.pulawy.pl

² Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowisk i Hydrologii, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, ul. A. Zelwerowicza 8B, 35-601 Rzeszów; e-mail ewac@ur.edu.pl

Określono zmiany jakości gleby pod wpływem oddziaływania systemów produkcji roślinnej na podstawie zmian aktywności i różnorodności drobnoustrojów, zawartości materii organicznej (MO) oraz zawartości łatwo-dyspergującego ilu (RDC) w glebie pod pszenicą ozimą. Badania (2016–2017) przeprowadzono w oparciu o wieloletnie doświadczenie polowe RZD IUNG-PIB w Osinach (woj. lubelskie) z różnymi systemami produkcji roślinnej. Oznaczono aktywność dehydrogenaz oraz zawartość MO i RDC, a także aktywność metaboliczną (BIOLOG® Ecoplates™) w glebie. Analizy statystyczne (ANOVA oraz Statistica ver. 10.0, Stat. Soft Inc., Tulsa, OK, USA) wykazały istotność różnic na poziomie $P \leq 0,05$. Wyniki wykazały korzystny wpływ systemu ekologicznego na glebę, na podstawie wyższej aktywności i różnorodności metabolicznej drobnoustrojów oraz wyższej zawartości MO i niższej zawartości RDC, w porównaniu do systemu konwencjonalnego.

Badania sfinansowano częściowo ze Statutowego Programu Badawczego IUNG-PIB 2.26 i 2.38 oraz Programu Badawczego Wieloletniego - Zadanie 1.3 i 1.4 oraz częściowo z WBR/KGCHŚiH/DS.5/2013-2019

Changes in the activity and diversity of soil microorganisms and soil stability in various crop production systems

The research was focused on changes in soil quality in relation to crop production systems applied on changes the activity and diversity of soil microorganisms, organic matter (OM) and readily-dispersible clay (RDC) contents in soil under winter wheat. The research (2016-2017) was carried out at the long-term experimental fields located at the IUNG-PIB ES in Osiny (Lublin Voivieship) with different crop production systems. The dehydrogenases activity and OM and RDC contents, and metabolic activity and diversity (Biolog® Ecoplates™) were analyzed. Statistical analysis (ANOVA and Statistica ver. 10 software, Stat. Soft Inc., Tulsa, OK, USA) showed significant differences at $P \leq 0.05$. The results indicated on beneficial effects of the ecological system on the soil, which was reflected in higher enzymatic activity and greater microbial metabolic diversity, and higher MO and lower RDC contents, compared to the conventional system.

The research was financed partly from IUNG-PIB Statute Programs 2.26 and 2.38 and Multiannual Programmes 1.3 and 1.4 and WBR/KGCHŚiH/DS.5/2013-2019

Analiza metagenomiczna w badaniach społeczności mikroorganizmów zasiedlających wnętrza roślin

Agata Goryluk-Salmonowicz¹, Magdalena Popowska²

¹ Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ² Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Sekwencjonowanie nowej generacji (NGS, Next-Generation Sequencing) zastosowane po raz pierwszy do zbadania wspólnoty mikroorganizmów endofitycznych przeprowadzono w roku 2010. Badania odbywały się na Uniwersytecie w Kolorado (Colorado State University) i dotyczyły endofitów ziemniaka (*Solanum tuberosum*). W obrębie wszystkich jedenastu badanych upraw zidentyfikowano 238 rodzajów bakterii należących do 15 typów. Co ciekawe, pięć z dziesięciu najbardziej powszechnych rodzajów (*Devosia*, *Dyadobacter*, *Pedobacter*, *Pseudoxanthomonas*, *Rheinheimer*) stanowiły taksony nie identyfikowane wcześniej w obrębie endofitów ziemniaka.

W kolejnych latach poznano mikrobiom endosfery kilku innych roślin o niezdrewniałych łodygach: aloesu, kukurydzy, męczennicy, piwonii, pomidora, ryżu, storczyka oraz winorośli. Wyniki badań sugerują, iż nadziemne części roślin (liście, łodygi, kwiaty, owoce) zasiedla mniej zróżnicowana mikrobiota niż części podziemne (korzenie, ryzosfera). W endosferze roślin dominują bakterie należące do typu *Proteobacteria* (30-90%) i *Firmicutes* (4-17%), w przeciwieństwie do ryzosfery, gdzie spotykane są powszechnie bakterie typu *Actinobacteria* (5-10%). Z kolei zróżnicowanie bakterii na poziomie rodzaju wydaje się być cechą zależną od gatunku rośliny.

Metagenomic analysis of microbial communities inhabiting plant interior

Next-Generation Sequencing (NGS) used for the first time to examine bacterial endophyte community was performed in 2010. The researches enabled analysis of potato (*Solanum tuberosum*) endophytes and were conducted at the Colorado State University. 238 bacterial genera were identified among all 11 tested potato cultivars and they were classified to 15 phyla. Interestingly, the presence of 5 of the 10 most common genera (*Devosia*, *Dyadobacter*, *Pedobacter*, *Pseudoxanthomonas*, *Rheinheimer*) has not been previously isolated as endophytes of potato. Further researches revealed endophytic communities of other herbaceous plants, like aloe plant, maize, passion flower, peony, tomato, rice, orchid and vine plant. Results confirm that above-ground parts of plants (leaves, stems, flowers, fruits) are inhabited by less diverse microbiota than underground parts (roots, rhizosphere). In the plant endosphere the most predominant phyla were *Proteobacteria* (30-90%) and *Firmicutes* (4-17%), while in the rhizosphere *Actinobacteria* was commonly found (5-10%). It is also evident that diversity of endophytic bacterial communities at the genus level depends on the plant species.

Wykorzystanie analizy polimorfizmu długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych typu multiplex w określeniu różnorodności genetycznej bakterii, grzybów oraz archeonów glebowych

Agata Gryta, Magdalena Frąć

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

Metody molekularne oparte na analizie genomowego DNA, umożliwiają badanie różnorodności mikroorganizmów występujących w środowisku glebowym. Ze względu na biotyczne interakcje pomiędzy zbiorowiskami mikroorganizmów multitaksonomiczne podejście do analizy zbiorowisk jest niezwykle istotne w kontekście oceny wpływu czynników środowiskowych na mikroorganizmy. Metoda multiplex t-RFLP (M-tRFLP) umożliwia symultaniczną i wydajną analizę kilku grup mikroorganizmów. M-tRFLP obejmuje: reakcję Multiplex-PCR z zastosowaniem par starterów oznakowanych różnymi znacznikami fluorescencyjnymi; restrykcję z wykorzystaniem endonukleazy restrykcyjnej dobranej odpowiednio do wszystkich produktów amplifikacji znajdujących się w mieszaninie reakcyjnej; oraz rozdział produktów po restrykcji przy użyciu analizatora genetycznego. Metoda ta generuje niższe koszty, jest mniej pracochłonna i szybsza, a także wpływa znacząco na jakość prowadzonych analiz w porównaniu do klasycznych metod analizy polimorfizmów.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Nauki w ramach programu Miniatura 2, numer umowy 2018/02/X/NZ9/00515 oraz Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017

The use of multiplex terminal restriction fragment length polymorphism of soil bacteria, fungi and archaea in determining of genetic diversity

Molecular methods based on the analysis of genomic DNA, allow the study of microbial diversity in the soil environment. Due to biotic interactions between microbial communities, the multitaxonomic approach to the analysis of communities is extremely important in the context of assessing the impact of environmental factors on microorganisms. The multiplex t-RFLP enables simultaneous and efficient analysis of several groups of microorganisms. M-tRFLP includes multiplex PCR with fluorescently labeling primers. The next step is the digestion using the restriction endonuclease chosen for all the amplification products contained in the reaction mixture. The last stage is the separation of the obtained products after the restriction using a genetic analyzer. This method generates lower costs, it is less labor intensive and faster, and also significantly affects the quality of the conducted analyzes compared to classical methods of polymorphism analysis.

This abstract was financed by National Science Center in frame of the project MINIATURA 2, contract number 2018/02/X/NZ9/00515, The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017

Charakterystyka fenotypowa izolatu bakteryjnego ze Spitsbergenu

¹Agnieszka Hanaka, ²Artur Nowak, ²Ewa Ozimek, ²Małgorzata Majewska,
²Jolanta Jaroszuk-Ściśeł

¹Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii i Biochemii,

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

Izolaty bakteryjne pochodzący z gleby Spitsbergenu zidentyfikowano biochemicznie jako Gram-ujemny *Pseudomonas luteola*. Wykazuje on wzrost na podłożach do hodowli dla oligo- i koptiotrofów, aktywność deaminazy kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboxylowego (ACC), zdolność do rozpuszczania $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (podłoże Pikovskaya), syntezy sideroforów (podłoże z Chrom Azurolem S, CAS), wytwarzania biofilmu (test z fioletem krystalicznym, CV).

Badano wpływ Cu na wzrost i aktywność izolatu w hodowlach z $50 \mu\text{M}$ Cu i bez dodatku metalu. Izolat rósł nawet 100 razy intensywniej na bogatym podłożu Luria-Bertani (LB) niż na minimalnym (MM9). Dodanie Cu spowodowało inhibicję wzrostu na podłożu MM9, ale nie hamowało wzrostu na podłożu LB. Dodanie tryptofanu (Trp) do podłoża MM9 stymulowało wzrost 24-godz. kultur, ale nie wpływało na ich wzrost na podłożu LB. Wykazano zdolność izolatu do produkcji IAA i związków kompleksujących Fe(III). Trp stymulował, a Cu inhibował zdolność do syntezy sideroforów hydroksamowych, natomiast synteza sideroforów katecholowych i związków fenolowych była niezależna od Trp i Cu. Izolat posiada cechy promocji wzrostu roślin pożądane w dalszych badaniach na roślinach.

Badania były częściowo finansowane i realizowane w ramach projektu Narodowego Centrum Nauki, nr 2017/01/X/NZ8/00859

Phenotypic characteristics of the bacterial isolate from Spitsbergen

The bacterial isolate from Spitsbergen soil was biochemically identified as Gram-negative *Pseudomonas luteola*. It was characterized by the growth on oligo- and copiotrophic media, possessed the activity of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase, solubilized $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (Pikovskaya medium), produced siderophores (chrome azurol S medium) and formed the biofilm (cristal violet, CV).

The effect of Cu on the growth and activity of the isolate in cultures with $50 \mu\text{M}$ Cu and without metal addition was studied. The isolate grew even ca. 100 times more intensely on the rich Luria-Bertani (LB) medium than on minimal (MM9). The addition of Cu caused an inhibition of growth on the MM9 medium, but did not inhibit growth on the LB medium. The addition of tryptophan (Trp) to the MM9 medium stimulated the growth of 24 h cultures, and did not affect the growth of the isolate on the LB medium. The isolate was capable of producing IAA and Fe(III) complexing compounds. Trp stimulated and Cu inhibited the ability to synthesize the hydroxamate siderophores, but the synthesis of the catecholate siderophores and phenolic compounds was independent of Trp and Cu. The isolate possess traits of plant growth promotion desired in further studies on plants.

This research was partially supported by the Polish National Science Centre, project number 2017/01/X/NZ8/00859

Analiza regionu odpowiedzialnego ze syntezę długołańcuchowych (ω -1)-hydroksykwasów tłuszczowych w genomach *Agrobacterium* spp.

Iwona Komaniecka, Kamil Żebracki, Andrzej Mazur, Katarzyna Suśniak, Katarzyna Zamłyńska, Małgorzata Gęca, Anna Pastuszka, Adam Choma

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

Agrobacterium tumefaciens (syn.: *Agrobacterium fabrum*, *Rhizobium rhizogenes*) to tumorogenny patogen roślin dwuliściennych. Infekcja roślin przez *Agrobacterium* objawia się powstawaniem guzów (tumorów) zazwyczaj pomiędzy korzeniem a pędem głównym rośliny. Pomimo, że taksonomia *Agrobacterium* podlega rewizji (z uwagi na kontrowersyjny transfer do rodzaju *Rhizobium*), powszechnie akceptowane jest istnienie trzech biowarów w obrębie tego rodzaju: *A. tumefaciens*, *A. rhizogenes* oraz *A. vitis*. Szczepy w obrębie gatunków *A. tumefaciens* i *A. rhizogenes* niosą plazmid infekcyjny Ti lub Ri, natomiast szczepy należące do gatunku *A. vitis* (infekujące krzewy winogron) posiadają wyłącznie plazmid Ti. Agrobakterie, podobnie jak rizobia, syntetyzują lipid A (hydrofobowy region lipopolisacharydu) z przyłączonym długołańcuchowym (ω -1)-hydroksykwasem tłuszczowym (VLCFA). Podjęto próbę analizy regionu kodującego biosyntezę i włączanie VLCFA do lipidu A *Agrobacterium*. Badania, z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych, oparto o ogólnodostępne w bazach danych sekwencje nukleotydowe genów oraz sekwencje aminokwasowe białek.

*Badania częściowo finansowane z projektu MINIATURA-1 (dla I.K.)
nr: 2017/01/X/NZ1/00448*

Analysis of the region encoding enzymes responsible for a very long chain ω -1)-hydroxy fatty acids synthesis in *Agrobacterium* spp. genomes

Agrobacterium tumefaciens (syn.: *Agrobacterium fabrum*, *Rhizobium rhizogenes*) is responsible for crown-gall disease in dicotyledonous plants. The disease is characterised by a tumour-like growth on the infected plant, often at the junction between the root and the shoot. Although the taxonomy of *Agrobacterium* is currently under revision (controversial transfer to the *Rhizobium* genus), it is widely accepted that three biovars exist within the genus: *A. tumefaciens*, *A. rhizogenes*, and *A. vitis*. Strains within *A. tumefaciens* and *A. rhizogenes* are known to be able to harbour either a Ti or Ri-infective plasmid, whereas strains of *A. vitis* (restricted to grapevines) can possess a Ti-plasmid. Agrobacteria, similarly to the rhizobium strains furnishes their lipid A (a hydrophobic part of lipopolysaccharide) with a very long chain (ω -1)-hydroxylated fatty acids (VLCFA). An attempt was made to analyze the region encoding the enzymes responsible for the biosynthesis and incorporation of VLCFAs into the *Agrobacterium* lipid A. Research, using bioinformatic tools, was based on available gene nucleotide sequences and proteins amino acid sequences.

*This work was partly supported by MINIATURA-1 project (for I.K.)
grant No.: 2017/01/X/NZ1/00448*

Wykorzystanie preparatów organicznych do poprawy parametrów mikrobiologicznych i fizycznych gleby w intensywnej uprawie cebuli

Beata Kowalska, Magdalena Szczech, Jacek Nowak, Waldemar Kowalczyk,
Anna Michalska, Jolanta Winciorek

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

Celem badań było zastosowanie preparatów organicznych w celu poprawy jakości i żyzności gleby intensywnie uprawianej. Doświadczenia przeprowadzono w dwóch gospodarstwach ogrodniczych prowadzących uprawę cebuli. Zastosowano następujące materiały: biohumus, preparat syпки zawierający grzyby *Trichoderma* na nośniku organicznym, preparat granulowany zawierający dwa izolaty *Trichoderma* oraz Rosahumus. Analizy mikrobiologiczne i fizyczne gleby wykonywano trzykrotnie: przed zastosowaniem preparatów, podczas wegetacji roślin i przed zbiorem cebuli. W obu gospodarstwach stwierdzono istotnie niższą aktywność enzymatyczną gleb w porównaniu do gleby ugorowanej. Jednorazowe zastosowanie preparatów organicznych wiosną, nie miało istotnego wpływu na liczebność badanych grup mikroorganizmów oraz ich aktywność w porównaniu do gleby kontrolnej. Nie stwierdzono również istotnego wpływu na właściwości fizyczne gleb (gęstość objętościowa, porowatość, połowa pojemność wodna). Różnice obserwowano jedynie pomiędzy glebą uprawną a ugorowaną. Gleba ugorowana odznaczała się lepszymi cechami fizycznymi niż gleba uprawiana. Doświadczenie będzie kontynuowane w kolejnych latach. Oczekuje się, że skuteczność zastosowanych preparatów będzie widoczna po wieloletnim ich stosowaniu.

Badania wykonane w ramach Programu Wieloletniego (2015-2020), finansowanego przez MRiRW, zadanie badawcze „Działania na rzecz poprawy konkurencyjności i innowacyjności sektora ogrodniczego z uwzględnieniem jakości i bezpieczeństwa żywności oraz ochrony środowiska naturalnego”

The use of organic preparations to improve the microbiological and physical parameters of soil in intensive onion cultivation

Purpose of the study was to use organic preparations to improve the quality and fertility of the soil extensively cultivated. The experiment was conducted in two horticultural farms with cultivation of onion. The following materials were used: vermicompost, powder containing fungi *Trichoderma* on organic media, granular preparation containing two isolates of *Trichoderma* and Rosahumus. The microbiological and physical analysis of soil was performed three times: before application of materials, during the growing season of plants and before harvesting onions. Both farms were found significantly lower soil enzymatic activity compared to fallow land. A one-time application of organic materials in the spring, had no significant effect on the abundance of the groups studied microorganisms and their activity compared to the control. There was not also a significant influence on the physical properties of the soil (bulk density, porosity, the water holding capacity). Differences were observed only between soil intensively cultivated and not cultivated.

The fallow soil had better physical characteristics than soil grown. The experiment will be continued in subsequent years. It is expected that the effectiveness of preparations will be visible after many years of use.

Struktura mikrobiomu węgla brunatnego w świetle warunków depozycji

Aleksandra Krężala¹, Izabela Śnieżyńska¹, Mirosław Słowakiewicz¹,
Anna Pytlak²

1 - Uniwersytet Warszawski, Wydział Geologii, Instytut Geochemii, Mineralogii i Petrologii, ul. Żwirki i Wigury 93, 02-089 Warszawa

2 - Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, ul. Konstantynów 1 I, 20-708 Lublin

Węgiel brunatny powstaje w wyniku przemian nagromadzonej materii roślinnej pod wpływem czynników geologicznych i biologicznych. Wiodącą rolę w transformacji materii organicznej odgrywają bakterie, które rozkładają makromolekuły do prostszych związków wykorzystywanych m.in. w procesie metanogenezy, który ma ogromne znaczenie dla kształtowania klimatu Ziemi. Przedmiotem badań był węgiel brunatny pochodzący z kopalni Konin. Analizowany mikrobiom zdominowany był przez *Proteobacteria* (79%), *Archaea* stanowiły zaś zaledwie 0,02% społeczności. Co ciekawe w węglu współwystępowały mikroorganizmy charakteryzujące się zróżnicowanymi wymaganiami względem natlenienia, np. odpowiedzialne zarówno za formowanie CH₄ (*Methanobacterium*) jak i jego utlenianie (*Methylosinus*). Stwierdzono, iż warunki depozycji (m. in. układ i charakter formacji nadkładowych) oraz działalność człowieka związana z eksploatacją warunkują skład występującego w węglu mikrobiomu i w sposób istotny wpływają na kierunek przemian materii organicznej w złożu.

Projekt finansowany przez Radę Konsultacyjną ds. Studenckiego Ruchu Naukowego Uniwersytetu Warszawskiego w ramach działalności University of Warsaw Student Chapter of AAPG "Koło Naukowe Geologów Naftowych" (sygnatura 22/I/2019) i Fundację Uniwersytetu Warszawskiego (wniosek nr 20)

The structure of lignite microbiome in the light of deposition conditions

Brown coal originates from accumulated plant debris modified by geological and biological processes. Bacteria which decompose macromolecules to simple compounds, e.g. subsequently used in methanogenesis, the process of great environmental importance, play a predominant role in organic matter transformation. Lignite derived from Konin coal mine was a subject of the current study. Its microbiome was dominated by *Proteobacteria* (79%) with *Archaea* comprising only 0,02% of the community. Interestingly, the coexistence of microorganisms, characterized by distinct aeration requirements, was stated in the coal, e.g. CH₄-producing *Methanobacterium* and CH₄-oxidizing *Methylosinus*. The conclusion was drawn that deposition along with anthropogenic conditions (excavation-related activity) determine coal microbiome composition and influence the direction of organic matter transformation in the deposit.

Project is financially supported by Rada Konsultacyjna ds. Studenckiego Ruchu Naukowego Uniwersytetu Warszawskiego as a part of University of Warsaw Student Chapter of AAPG "Koło Naukowe Geologów Naftowych" activity (signature 22/I/201) and University of Warsaw Foundation (application no 20)

Porównanie częstości występowania genów oporności na tetracykliny z fenotypem oporności wśród szczepów *Aeromonas* sp. izolowanych od ryb

Maria Kurzylewska¹, Katarzyna Dworaczek¹, Magdalena A. Karaś¹, Agnieszka Pękała-Safińska², Jolanta Kutkowska¹, Anna Turska-Szewczuk¹

¹Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin, ul. Akademicka 19

²Zakład Chorób Ryb, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Aleja Paryżantów 57

Celem badań było porównanie częstości występowania genów oporności na tetracykliny z występowaniem fenotypu oporności wśród szczepów *Aeromonas* sp. izolowanych od ryb hodowlanych w Polsce.

Badania przeprowadzono na 34 izolatach *Aeromonas* sp. Oporność fenotypową oznaczono metodą dyfuzyjno-krążkową, posiewu na podłożu suplementowane antybiotykiem oraz metodą seryjnych rozcieńczeń antybiotyku, która pozwoliła na określenie minimalnego stężenia hamującego – MIC. Obecność genów oporności na tetracykliny: *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE*, *tetM* identyfikowano na podstawie produktów reakcji PCR.

Wyniki: spośród 34 badanych szczepów *Aeromonas* sp., 11 izolatów było opornych, a 7 średniowrażliwych na działanie tetracyklin. Występowanie genów oporności stwierdzono u 7 szczepów opornych oraz 3 szczepów średniowrażliwych na antybiotyki.

Wnioski: rozpowszechnienie fenotypu oporności na tetracykliny wśród izolatów *Aeromonas* sp. jest związane z występowaniem dodatkowych, nie wykrytych w tym badaniu, determinant genetycznych zlokalizowanych na plazmidach lub w chromosomie.

Comparison of the prevalence of tetracycline resistance genes with the resistance phenotype among *Aeromonas* sp. strains isolated from fish

The aim of the study was to compare the prevalence of tetracycline resistance genes with the resistance phenotype among *Aeromonas* sp. strains isolated from fish cultured in Poland.

The study was carried out on 34 isolates of *Aeromonas* sp. The phenotypic resistance was determined by a disk diffusion method, culture on a medium supplemented with an antibiotic and serial dilution of the antibiotic, which allowed determination of the minimum inhibitory concentration - MIC. The presence of tetracycline resistance genes: *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, and *tetE*, was detected based on PCR reaction products.

Results: of the 34 tested *Aeromonas* sp. strains, 11 isolates were resistant to tetracycline, and 7 exhibited moderate resistance to tetracycline. Resistance genes were found in 7 resistant strains and in 3 moderately resistant strains.

Conclusions: the prevalence of the tetracycline resistance phenotype among *Aeromonas* sp. isolates is associated with the occurrence of additional genetic determinants, not detected in this study, located on plasmids or on the chromosome.

Analiza regionu kodującego syntezę długołańcuchowych (ω -1) – hydroksykwasów tłuszczowych w genomach *Methylobacterium* spp.

Anna Pastuszka, Kamil Żebracki, Iwona Komanińska, Adam Choma

Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Metylotrofia to zdolność organizmów do wykorzystywania związków jednowęglowych w postaci zredukowanej, które stanowią dla nich podstawowe lub fakultatywne źródło energii. Do grupy mikroorganizmów względnie metylotroficznych zaliczamy min. drobnoustroje z rodzaju *Methylobacterium*. Stanowią one grupę Gram-ujemnych, ściśle tlenowych bakterii, przynależnych do rzędu *Rhizobiales*. Ich naturalnym miejscem bytowania jest gleba, woda słodka, osady jeziorne, a także kurz i powietrze atmosferyczne. Liczne gatunki z rodzaju *Methylobacterium* zdolne są do kolonizacji roślin, zwłaszcza ich przestrzeni międzykomórkowych (endosfery). Bakterie metylotroficzne występują też w ryzosferze oraz fyllosferze, gdzie korzystają z metanolu uwalnianego przez roślinę w procesie degradacji ściany komórkowej. Konserwatywny genom rdzeniowy gatunków z rodzaju *Methylobacterium* liczy średnio 2010 genów. Wśród nich obecne są zarówno geny metabolizmu podstawowego (związane

z przemianami energetycznymi i zjawiskiem metylotrofii), geny adaptacji do powierzchni roślin oraz geny zaangażowane w szlaki metaboliczne, które mogą przyczyniać się do promowania wzrostu roślin. Kodują one fitohormony oraz specyficzne enzymy wpływające na szybszy rozwój roślin.

Podjęto próbę analizy region kodującego biosyntezę długołańcuchowych (ω -1)-hydroksykwasów tłuszczowych, integralnych składników lipopolisacharydów *Methylobacterium*. Badania, z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych, oparto o ogólnodostępne sekwencje nukleotydowe genów i aminokwasowe białek.

Analysis of the region encoding the synthesis of very long-chain (ω -1) -hydroxy fatty acids in the genomes of *Methylobacterium* spp.

Methylotrophy is the ability of organisms to use reduced one-carbon compounds, which are a basic or facultative source of energy for them. The group of relatively methylotrophic microorganisms includes for example species of the genus *Methylobacterium*. They constitute a group of Gram-negative, strictly aerobic bacteria of the order *Rhizobiales*. The place of their natural occurrence is soil, freshwater, Lake sediments, as well as dust and atmospheric air. Numerous species of the genus *Methylobacterium* may colonize plants, especially their intercellular space called endospheres. Methylotrophic bacteria also occur in the rhizosphere and phyllosphere, where they use methanol emitted by the plants in the process of cell wall degradation. The conservative core genome of species from the genus *Methylobacterium* counts of about 2010 genes. There are both central metabolic genes (associated with energy metabolism and methylotrophy), genes for adaptation to plant surfaces and genes involved in metabolic pathways that can contribute to the promotion of plant growth. These genes encode phytohormones and specific enzymes that affect faster plant's ripening.

Research was undertaken to analyze the region encoding the biosynthesis of very long-chain (ω -1)-hydroxy fatty acids, the integral components of *Methylobacterium*

lipopolysaccharides. Studies, using bioinformatics tools, were based on available nucleotide sequences of genes and amino acid sequences of corresponding proteins.

Zmęczenie gleby jako efekt występowania grzybów toksynotwórczych w glebach uprawnych

Anna Pikulicka, Wiesław Barabasz

Państwowa Wyższa Szkoła Wschodnioeuropejska w Przemysłu

Zmęczenie gleby to niekorzystne zjawisko występujące na całym świecie i coraz częściej w europejskich glebach uprawnych, na których zaczyna dominować uprawa zbóż. Ocenia się, że w Europie w strukturze zasiewów zboża stanowią około 70%. Jest to z wielu względów niekorzystne, bo przyczynia się do degradacji gleb uprawnych, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia plonów roślin uprawnych. Spośród wielu czynników, które są przyczyną zmęczenia gleb i wpływają na zmniejszenie plonów, na uwagę zasługuje czynnik biologiczny, a szczególnie pojawianie się zwiększonej ilości grzybów w tym grzybów patogennych oraz grzybów toksynotwórczych. Należy zaznaczyć, że rośliny uprawiane w Europie są doskonałym substratem dla rozwoju różnych gatunków grzybów, a warunki klimatyczne w tym obfite opady w okresie żniw sprzyjają produkcji mykotoksyn. Najbardziej znane mykotoksyny i szczególnie groźne dla wszystkich organizmów glebowych oraz roślin wyższych, zwierząt i człowieka są gatunki należące do rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* i *Alternaria*. I właśnie mykotoksyny wydają się być jednym z głównych negatywnych czynników natury biologicznej, które w sposób istotny wpływają na aktywność mikrobiologiczną gleb uprawnych, przyczyniając się do załamania równowagi w układach mikrobiocenotycznych gleb, co objawia się obniżeniem plonów roślin uprawnych. Szkodliwy wpływ mykotoksyn na mikrobiotę glebową, objawia się głównie zahamowaniem intensywności procesów rozkładu materii organicznej, osłabieniem aktywności procesów biologicznego wiązania azotu atmosferycznego, negatywnym wpływem na krążenie biogenów w agroekosystemach oraz osłabieniem procesów symbiozy między drobnoustrojami a roślinami uprawnymi, a także eliminacją bakterii uznanych za PGPR (plant growth promoting rhizobacteria). Należy zaznaczyć, że zmęczenie gleby to przykład niekorzystnych zmian w naturalnym środowisku przyrodniczym, wywołanych zaburzeniami w funkcjonowaniu poszczególnych elementów biocenozy glebowej, a przykładami zjawiska zmęczenia gleby to, znane rolnikom praktykom: wykoniczynienie, wylucernienie, wytytonienie, wynlnienie, wyburaczenie itp.

Soil sickness as a result of the occurrence of toxinogenic fungi in cultivated soils

Soil sickness is a disadvantage occurring all over the world and more and more often in European arable soils, on which cereal cultivation begins to dominate. It is estimated that Europe in the structure of cereal sowing accounts for about 70%. This is unfavorable in many ways because it contributes to the degradation of arable soils, which in turn leads to a reduction in crop yields. Among the many factors that cause soil sickness and affect the reduction of crops attention should be paid to the biological factor, and especially the occurrence of an increased number of fungi including pathogenic fungi and toxinogenic fungi. It should be noted that plants grown in Europe are an excellent substrate for the development of various species of fungi, and climatic

conditions including heavy rainfall during the harvest season favor the production of mycotoxins. The most well known mycotoxins and particularly dangerous for all soil organisms and higher plants, animals and humans are species belonging to the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* and *Alternaria*. And it is mycotoxins that seem to be one of the main negative biological factors that significantly affect the microbiological activity of arable soils, contributing to a breakdown in the microbiocenotic systems of soils, which results in a decrease in crop yields. The harmful effect of mycotoxins on the soil microbiota manifests itself mainly in inhibiting the intensity of organic matter decomposition processes, weakening of biological nitrogen fixing processes, adverse effects on nutrient biogens in agroecosystems and weakening of symbiosis between microorganisms and crops, as well as elimination of bacteria recognized as PGPR (plant growth promoting rhizobacteria). It should be noted that soil sickness is an example of unfavorable changes in the natural environment caused by disturbances in the functioning of individual elements of soil biocenosis, and examples of soil sickness are familiar to farmers: clover, execution; tobacco, grinding; flax, eradication; beets, breakage etc.

Stymulacja metanogenezy w węglach kamiennych z wykorzystaniem społeczności mikroorganizmów wyizolowanych z osadów organicznych

Anna Pytlak¹, Anna Szafrank-Nakonieczna¹, Jarosław Grządziel², Agnieszka Kuźniar¹, Adam Kubaczyński³, Artur Banach¹, Andrzej Górski¹, Weronika Goraj¹, Anna Gałązka², Zofia Sępniewska¹

¹Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, ul. Konstantynów 1 I, 20-708 Lublin

²Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

³Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin,

Wykorzystanie złóż węgla kamiennego do produkcji biogazu stanowi potencjalne rozwiązanie problemów generowanych przez tradycyjne górnictwo. Opracowanie efektywnej technologii biologicznego zgazowania węgla do metanu wymaga zastosowania wyspecjalizowanych społeczności mikroorganizmów tworzonej przez bakterie zdolne do rozkładu kompleksowych związków organicznych oraz metanogeniczne *Archaea*. W bieżącej pracy przedstawiono wyniki stymulacji metanogenezy w węglach kamiennych pochodzących z warstw rudzkich (Górnośląskie Zagłębie Węglowe). Do tego celu wykorzystano mikroorganizmy wyizolowane z torfu i osadu jeziornego hodowane na podłożach zawierających różne źródła węgla. Największą efektywnością w tworzeniu metanu charakteryzowały się próbki, w których na podstawie sekwencjonowania następnej generacji (NGS), potwierdzono obecność mikroorganizmów należących do rodzaju: *Methanomassiliicoccus*, *Methanosarcina*, *Methanospirillum*, *Methanoregula*, a także *Methanocella*.

Badania finansowane w ramach projektu NCN 2015/17/B/NZ9/01662.

Stimulation of biogenic methane production from hard coal using microbial communities isolated from organic deposits

The use of hard coal deposits for biogas production is a potential solution to problems generated by traditional mining. The development of effective biological biomass gasification technology to methane requires the use of specialized communities of microorganisms containing bacteria capable of decomposing complex organic molecules and methanogenic *Archaea*. The current work presents results of methanogenesis stimulation in hard coals originating from the ruda beads (Upper Silesian Coal Basin). For this purpose, microorganisms isolated from peat and lake sediment were grown on media containing various carbon sources. The highest efficiency in methane generation was achieved in samples in which next generation sequencing (NGS) confirmed the presence of microorganisms belonging to genera: *Methanomassiliicoccus*, *Methanosarcina*, *Methanospirillum*, *Methanoregula*, as well as *Methanocella*.

Investigations was supported by the National Science Centre, project no. 2015/17/B/NZ9/01662.

Bioróżnorodność i potencjał biotechnologiczny mikrobiomu zbiornika zapadliskowego „Szczecin”

Anna Szafranek-Nakoneczna¹, Anna Pytlak¹, Jarosław Grządziel², Adam Kubaczyński³, Artur Banach¹, Andrzej Górski¹, Agnieszka Kuźniar¹, Weronika Goraj¹, Anna Gałązka², Zofia Sępniewska¹

¹Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, ul. Konstantynów 1 I, 20-708 Lublin

²Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

³Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin,

Metanogeneza jest biologicznym procesem występującym w naturalnych środowiskach, przeprowadzanym przez konsorcja *Bacteria* i *Archaea*, wykorzystywanym w biotechnologii do produkcji biogazu z różnego rodzaju odpadów. W ramach prezentowanych badań społeczności drobnoustrojów pochodzących z osadów zbiornika zapadliskowego hodowano na podłożach zawierających różne źródła węgla. Najwyższy potencjał metanogeniczny (800 μM $\text{CH}_4/\text{L/d}$) wykazywały mikroorganizmy hodowane na podłożu zawierającym trypton, ekstrakt drożdżowy oraz CO_2/H_2 . Konsorcja metanogeniczne zidentyfikowano na podstawie sekwencjonowanie następnej generacji (NGS), a funkcjonalne geny związane z transformacją materii organicznej określono przy użyciu programu PICRUSt oraz w oparciu o bazę KEGG. Analiza społeczności mikroorganizmów rzuca nowe światło na ekofizjologię opisanych bakterii z typu *Caldiserica*, nie wiązanych dotychczas z procesem metanogenezy oraz metanogenów z rodzajów *Methanomassiliococcus* i *Methanotrix*.

Badania finansowane w ramach projektu NCN 2015/17/B/NZ9/01662).

Diversity and biotechnological potential of the microbiome of mining subsidence sediment

Methanogenesis is a biological process occurring in many natural environments carried out by a consortium of *Bacteria* and *Archaea* and used in biotechnology for biogas production from various types of waste. In this research, microbial community retrieved from mining subsidence reservoir sediment was enrichment on media containing different carbon sources. The highest methanogenic potential (800 μM $\text{CH}_4/\text{L/d}$) characterised consortium grown with tryptone, yeast extract, and CO_2/H_2 . Methanogenic consortia were identified by next generation sequencing (NGS) and functional genes connected with organic matter transformation were predicted using the PICRUSt approach and annotated in the KEGG. The analysis of microbial communities structure casts new light on the ecophysiology of the recently described bacterial phylum *Caldiserica*, not previously associated with the process of methanogenesis and methanogens belonging to the genera *Methanomassiliococcus* and *Methanotrix*.

Investigations was supported by the National Science Centre, project no. 2015/17/B/NZ9/01662).

Identyfikacja fenotypowa oraz genotypowa dwóch szczepów grzybów *Trichoderma* spp. na podstawie porównania profilu fizjologicznych w teście Biolog FF oraz sekwencji regionów ITS

Renata Tyśkiewicz¹, Artur Nowak¹, Grzegorz Janusz², Anna Pawlik², Anna Słomka¹, Ewa Ozimek¹, Małgorzata Majewska¹, Jolanta Jaroszuk-Ściśeł¹

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

Proces identyfikacji grzybów powinien obejmować testy morfologiczne, biochemiczne jak również wykonane metodami biologii molekularnej. Konwencjonalne metody określające cechy fenotypowe stanowią cenne potwierdzenie gatunkowej przynależności szczepów. Sekwencje otrzymanych produktów PCR o wielkości 603 bp i 565 bp dla ITS1 i ITS4 rRNA charakteryzowały się 99% podobieństwem i dopasowaniem odpowiednio do gatunków: *Trichoderma koningiopsis* (DEMTkZ3A0) oraz *Trichoderma brevicompactum* (DEMTbSk5). Analiza fenotypowa Biolog FF MicroPlate wykazała znaczne różnice w liczbie oraz intensywności wykorzystanych substratów przez badane szczepy, co stanowi potwierdzenie ich odrębności gatunkowej. Szczep TkZ3A0 najsilniej metabolizował węglowodany proste i złożone, natomiast izolat TbSk5 aminokwasy. Indeks aktywności metabolicznej AWCD (ang. *Average Well Colour Development*) szczepu TkZ3A0 wynosił 0,35 i był niemal 2 razy wyższy, natomiast wskaźnik różnorodności R_s (ang. *Substrate Richness*) wynosił 37 i był 1,5 razy wyższy w porównaniu do szczepu TbSk5. Wskaźnik różnorodności Shannona-Wienera (H) szczepu TkZ3A0 wynosił 1,51, a szczepu TbSk5 1,35 natomiast wskaźniki Shannona Evenness (S) dla obu testowanych grzybów były zbliżone.

Badania były finansowane z projektów BS-P-11-010-18-2-06 i BS-M-11-010-18-2-10

Phenotypic and genotypic identification of two *Trichoderma* strains based on a comparison of physiological profiles in the Biolog FF test and the ITS region sequence

The process of identifying fungi requires morphological and biochemical tests as well as molecular biology methods. The conventional methods defining phenotypic traits provide valuable confirmation of species belonging to the strains. The sequences of the obtained PCR products of 603 bp and 565 bp for ITS1 and ITS4 rRNA were characterized by 99% similarity and matching according to *Trichoderma koningiopsis* (DEMTkZ3A0) and *Trichoderma brevicompactum* (DEMTbSk5) species. The Biolog FF MicroPlate phenotype analysis showed significant differences in the number of substrates utilized by the tested strains which confirms their species identity. The TkZ3A0 strain was most strongly utilized in simple and complex carbohydrates, while the TbSk5 isolate was amino acid. The metabolic activity index AWCD (*Average Well Colour Development*) of TkZ3A0 strain was 0.35 and it was almost 2 times higher, whereas the R_s (*Substrate Richness*) index was 37 and 1.5 times higher compared with the TbSk5 strain. The Shannon-Wiener diversity index (H) of the TkZ3A0 strain was 1.51, the TbSk5 strain was 1.35 and the Shannon Evenness (S) indexes for both tested fungi were similar.

Zróżnicowanie ryzosferowych mykopasożytniczych szczepów grzybów *Trichoderma* spp. pod względem syntezy fitohormonu IAA

Renata Tyśkiewicz¹, Artur Nowak¹, Ewa Ozimek¹, Małgorzata Majewska¹, Anna Pawlik², Grzegorz Janusz², Elżbieta Patkowska³, Jolanta Jaroszuk-Ściśeł¹

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

³Zakład Fitopatologii i Mykologii, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Grzyby *Trichoderma* spp. badano pod względem oddziaływania na grzybowe fitopatogeny oraz na rośliny. Siedem wybranych szczepów o silnych właściwościach mykopasożytniczych zakwalifikowano na podstawie sekwencji regionów ITS1 i ITS4 do pięciu gatunków: *T. koningiopsis* (TkZ3A0, TkSk356), *T. velutinum* (TvF48, TvSk68), *T. harzianum* (ThG360), *T. brevicompactum* (TbSk5) oraz *T. citrinoviride* (TcF166). Szczepy te poddano analizie fizjologicznej w celu określenia ich potencjału do syntezy auksyny (kwasu indolilo-3-octowego, IAA) w hodowlach płynnych prowadzonych

w różnych warunkach temperatury (12, 20 i 28°C) i czasu (2, 3, 4 i 5 dni) inkubacji na podłożu mineralnym RB uzupełnionym o aminokwasowe prekursorzy fitohormonów: metioninę i tryptofan. Synteza IAA dla 4 szczepów (TkZ3A0, TkSk356, TvF48, TvSk68) była zależna od obecności aminokwasu w podłożu, temperatury oraz czasu inkubacji. Wszystkie szczepy syntetyzowały IAA w najwyższych stężeniach (do 0,9 µg/mL) w 12°C w hodowlach z dodatkiem tryptofanu. Izolat ThG360 wytwarzał fitohormon IAA

w znaczących ilościach zarówno w obecności obu aminokwasowych prekursorów jak i w hodowlach bez aminokwasów we wszystkich trzech temperaturach inkubacji, natomiast szczepy TbSk5 i TcF166 w temperaturze 20 i 28°C.

Badania były finansowane z projektów BS-P-11-010-18-2-06 i BS-M-11-010-18-2-10

Differentiation of the synthesis of phytohormone IAA by mycoparasitic *Trichoderma* strains isolated from the rhizosphere

The *Trichoderma* spp. fungal strains were tested for their impact on the phytopathogens and plants. Seven selected strains with strong mycoparasite properties were classified on the basis of the ITS1 and ITS4 region sequences into five species: *T. koningiopsis* (TkZ3A0, TkSk356), *T. velutinum* (TvF48, TvSk68), *T. harzianum* (ThG360), *T. brevicompactum* (TbSk5) and *T. citrinoviride* (TcF166). These strains were tested for the ability to synthesize indoleacetic acid (IAA) auxin in liquid cultures carried out at different temperature conditions (12, 20 and 28°C) and incubation time (2, 3, 4 and 5 days) on a mineral medium RB supplemented with amino acids: methionine and tryptophan. The synthesis of IAA was dependent for 4 strains (TkZ3A0, TkSk356, TvF48, TvSk68) on the presence of the amino acid precursor, temperature and incubation time. All strains synthesized IAA at the highest concentrations (0.9 µg/mL) at 12°C in cultures with the addition of tryptophan. The ThG360 isolate produced the phytohormone IAA in significant amounts both in the presence of amino acid precursors and in cultures without amino acids at all three incubation temperatures, while the TbSk5 and TcF166 strains at 20 and 28°C.

Charakterystyka szczepu OA139 – filogeneza i taksonomia

Sylwia Wdowiak-Wróbel¹, Monika Marek-Kozaczuk¹, Michał Kalita¹, Marta Palusińska-Szys¹, Mykhaylo Chernetsky²

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

²Ogród Botaniczny UMCS, ul. Sławinkowska 3, 20-810 Lublin,

Rodzaj *Ononis* (restharrow; wilżyna) to duży rodzaj roślin reprezentujący rodzinę Fabaceae. Jednym z członków tego rodzaju jest wilżyna bezbronna (*Ononis arvensis* L.). *O. arvensis* jest byliną powszechnie występującą na całym obszarze Polski. Badaniami objęto szczep OA139 wyizolowany z brodawki korzeniowej wilżyny bezbronnej, rośliny pochodzącej z południowo - wschodniej części Polski. W celu określenia relacji filogenetycznych badanego szczepu z innymi bakteriami brodawkowymi oraz ustalenia jego pozycji taksonomicznej, wykonano analizę porównawczą sekwencji czterech genów metabolizmu podstawowego (*atpD*, *glnA*, *gyrB*, *rpoB*). Analiza filogenetyczna sekwencji genów metabolizmu podstawowego szczepu OA139, wykazała, że szczep ten reprezentuje bakterie rodzaju *Ochrobactrum*. Na filogramie połączonych sekwencji genów: *atpD*, *glnA*, *gyrB*, *rpoB* izolat z brodawek korzeniowych *O. arvensis* utworzył wspólne grono z bakteriami gatunku *O. grignonense*, *O. pseudogrignonense* oraz *O. thiophenivorans*. W oparciu o MLSA można stwierdzić, że badany szczep może reprezentować nowy gatunek rodzaju *Ochrobactrum*. Określenie przynależność gatunkowej szczepu OA139 pochodzącego z brodawki korzeniowej *O. arvensis* wymaga jednak dalszych badań (oznaczenia stopnia hybrydyzacji DNA-DNA).

Characterisation of the OA139 strain - phylogeny and taxonomy

Genus *Ononis* (restharrow) is a large genus representing the Fabaceae family. One of the members of this genus is Field Restharrow (*Ononis arvensis* L.). *O. arvensis* is a perennial commonly found throughout Poland. The research involved the OA139 strain isolated from the nodule root of Field Restharrow, originating from the south-eastern part of Poland. In order to determine the phylogenetic relationships of the test strain with other nodule bacteria and establish its taxonomic position, a comparative analysis of the four housekeeping genes (*atpD*, *glnA*, *gyrB*, *rpoB*) was performed. Phylogenetic analysis of the housekeeping genes sequence of the strain OA139, showed that this strain represents bacteria of the genus *Ochrobactrum*. In the phylogram of linked gene sequences: *atpD*, *glnA*, *gyrB*, *rpoB* root nodule isolate *O. arvensis* formed a group of bacteria with species *O. grignonense*, *O. pseudogrignonense* and *O. thiophenivorans*. Based on MLSA analysis, it can be concluded that the studied strain may represent a new species of the genus *Ochrobactrum*. However, the species position of *O. arvensis* strain OA139 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 Puławachul.
Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, Polska
Ryszard 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. Fosfataza kwaśna na obiekcie kontrolnym była 31% niższa niż na obiektach nawozowych. Najwyższą fosfatazę kwaśną odnotowano dla Wapna węglanowego przy niższej dawce wapnia (74,47 µg/g s.m. gleby). Zwiększenie fosfatazy kwaśnej uzyskane pod wpływem wzrastającej dawki wapnia obserwowano w połowie przypadków, najwyższe przy Wapnie tlenkowym-magnezowym. Wzrost dawki wapnia spowodował 4,1% wzrost fosfatazy kwaśnej. Fosfataza zasadowa na obiekcie kontrolnym była przeszło 1,5 krotnie niższa niż na obiektach nawozowych. Najwyższą fosfatazę zasadową odnotowano dla Wapna węglanowego przy wyższej dawce wapnia (22,06 µg/g s.m. gleby). Zwiększenie fosfatazy zasadowej uzyskane pod wpływem wzrastającej dawki wapnia obserwowano przy wszystkich obiektach wapnowanych, najwyższe przy Wapnie defekacyjnym. Wzrost dawki wapnia spowodował 7,5% wzrost fosfatazy zasadowej.

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

The experiment tested the effect of selected liming agents (chalk, carbonate lime, oxide lime (60% CaO), carbonate-magnesium lime, oxide-magnesium lime, post-sodium lime, gypsum, defective lime) applied at rates of 0.5 and 1.0 of optimal rate, respectively: 1.75 and 3.5 t CaO/ha, against the control treatment (without liming, with standard NPK fertilisation. Acid phosphatase on the control facility was by 31% lower than in fertilizer treatments. The highest acid phosphatase was recorded for carbonate lime at a lower rate of calcium (74.47 µg/g of soil dry matter). An increase in acid phosphatase obtained under the influence of increasing calcium rate was observed in half of the cases, the highest with oxide-magnesium lime. An increase in the calcium rate resulted in a 4.1% increase in acid phosphatase. The alkaline phosphatase on the control treatment was more than 1.5 times lower than on fertilizer treatments. The highest alkaline phosphatase was recorded for carbonate lime at a higher dose of calcium (22.06 µg/g of soil dry matter). An increase in alkaline phosphatase obtained under the influence of increasing calcium rate was observed in all limed treatments, the highest in the case of defective lime. An increase in calcium rate caused a 7.5% increase in alkaline phosphatase.

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

Ryszard Winiarski

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławachul.
Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, Polska
Ryszard 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. Fosfataza kwaśna na obiekcie kontrolnym była 1,2% niższa niż na obiektach nawozowych. Najwyższą fosfatazę kwaśną odnotowano dla Wapna defekacyjnego (89,95 i 88,97 $\mu\text{g/g}$ s.m. gleby). Zwiększenie fosfatazy kwaśnej uzyskane pod wpływem wzrastającej dawki wapnia obserwowano w większości przypadków, najwyższe przy Wapnie węglanowym. Wzrost dawki wapnia spowodował 2,6% wzrost fosfatazy kwaśnej. Fosfataza zasadowa na obiekcie kontrolnym była blisko 20% niższa niż na obiektach nawozowych. Najwyższą fosfatazę zasadową odnotowano dla Wapna defekacyjnego przy wyższej dawce wapnia (10,85 $\mu\text{g/g}$ s.m. gleby). Zwiększenie fosfatazy zasadowej uzyskane pod wpływem wzrastającej dawki wapnia obserwowano w większości przypadków, najwyższe przy Wapnie defekacyjnym. Wzrost dawki wapnia spowodował przeszło 7% wzrost fosfatazy zasadowej.

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

The experiment tested the effect of selected liming agents (chalk, carbonate lime, oxide lime (60% CaO), carbonate-magnesium lime, oxide-magnesium lime, post-sodium lime, gypsum, defective lime) applied at rates of 0.5 and 1.0 of optimal rate, respectively: 1,75 and 3,5 t CaO/ha, against the control treatment (without liming, with standard NPK fertilisation). Acid phosphatase on the control treatment was by 1.2% lower than on fertilizer treatments. The highest acid phosphatase was recorded for defective lime (89.95 and 88.97 $\mu\text{g/g}$ of soil dry matter). An increase in acid phosphatase obtained under the influence of increasing rates of calcium, was observed in most cases, the highest for carbonate lime. An increase in the calcium dose resulted in a 2.6% increase in acid phosphatase. Alkaline phosphatase in the control treatment was nearly by 20% lower than in fertilizer treatments. The highest alkaline phosphatase was recorded for defective lime at a higher rate of calcium (10.85 $\mu\text{g/g}$ of soil dry matter). An increase in alkaline phosphatase obtained under the influence of increasing rates of calcium was observed in the majority of cases, the highest in the case of defective lime. The increase in calcium rate caused over 7% increase in alkaline phosphatase.

Zróżnicowanie genetyczne endofitów szczodrzenia zmiennego pochodzących z różnych środowisk

Karolina Włodarczyk¹, Monika Marek-Kozaczuk¹, Jerzy Wielbo¹, Sylwia Wdowiak-Wróbel¹, Michał Kalita¹

¹Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Szczodrzeniec zmienny (*Chamaecytisus albus*) należący do roślin bobowatych (*Fabaceae*) jest gatunkiem podlegającym w Polsce ścisłej ochronie jako gatunek krytycznie zagrożony (według „Polskiej Czerwonej Księgi Paprotników i Roślin Naczyniowych”, 2016). Szczodrzeniec wchodzi w interakcje symbiotyczne z bakteriami brodawkowatymi (*Rhizobiaceae*), które dostarczają roślinom łatwo przyswajalne formy azotu potrzebne do wzrostu i rozwoju. Ryzobiowe symbionty szczodrzenia nie były dotychczas badane, dlatego wyizolowano kolekcję szczepów z brodawek korzeniowych *Chamaecytisus albus* rosnącego na (a) glebie pochodzącej ze stanowiska naturalnego szczodrzenia oraz (b) glebie na której szczodrzeniec jest uprawiany w Ogrodzie Botanicznym UMCS. Analiza sekwencji zamplifikowanych fragmentów genów metabolizmu podstawowego mikrosymbiontów szczodrzenia zmiennego, wykazała, iż szczepy te klasyfikują się do rodzaju *Rhizobium*, *Phyllorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Blastobacter* oraz *Bosea*. Uzyskane wyniki wskazują na dużą różnorodność ryzobiów niezależnie od środowiska ich pochodzenia.

The genetic diversity of *Cytisus albus* endophytes from different environments

Chamaecytisus albus (*Cytisus albus*) is a species under strict protection in Poland. Since 2016, *Cytisus albus* has been considered a critically endangered (CR) species in the „Polish red list of pteridophytes and flowering plants”. It belongs to the *Fabaceae* family, which can enter symbiotic interaction with bacteria belonging to *Rhizobiaceae*. The symbiotic interaction ensure a permanent supply of easily digestible forms of nitrogen, which is necessary for plant growth and development. The analysis of the hotspot genes of the *Cytisus albus* microsymionts revealed that these strains are classified into the genus *Rhizobium*, *Phyllorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Blastobacter* or *Bosea*. This result indicates a large diversity of the endophytes, regardless of their occurrence

Zmienność mikrobiomu endofitycznego w odmianach pszenicy ozimej

Kinga Włodarczyk¹, Agnieszka Kuźniar¹, Weronika Goraj¹, Anna Sochaczewska¹, Jarosław Grządziel², Karolina Furtak², Małgorzata Woźniak², Anna Gałązka², Agnieszka Wolińska¹

¹ Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, ul. Konstantynów 1 I, 20-708 Lublin

² Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

Endofity powszechnie występują w roślinach, wpływając na ich wzrost i rozwój. Są też ważnym źródłem genetycznym mikroorganizmów, które mogą wytwarzać metabolity mające wiele zastosowań w biotechnologii, rolnictwie i medycynie.

Celem pracy była analiza bakterii endofitycznych, zasiedlających korzenie, liście i koleoptyle dwóch gatunków pszenicy ozimej: *Triticum aestivum* L. (odmiana Hondia) i *Triticum spelta* L. (odmiana Rokosz). DNA wyizolowano za pomocą zestawu DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit (QIAGEN). Sekwencjonowanie Następnej Generacji zostało wykonane z użyciem technologii MiSeq 2000 Illumina (Genomed SA, Warszawa).

Mikrobiom endofityczny charakteryzował się dużą różnorodnością w zależności od gatunku pszenicy, a także organu gospodarza. Badane gatunki pszenicy ozimej posiadają trzy wspólne rodzaje bakterii endofitycznych: *Pseudomonas*, *Flavobacterium* i *Janthinobacterium*. Specyficzny mikrobiom endofityczny tworzony jest przez bakterie z rodzaju: *Paenibacillus* (w *T. aestivum* cv. Hondia) oraz *Pedobacter* i *Duganella* (w *T. spelta* cv. Rokosz).

Projekt finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu LIDER IX – 0024/L-9/2017

Variation of endophytic microbiome in winter wheat cultivars

Endophytes are common in plants, affecting their growth and development. They are also an important source of microorganisms that can produce metabolites that have many applications in biotechnology, agriculture and medicine.

The aim of the study was the analysis of endophytic bacteria inhabiting roots, leaves and coleoptiles among two varieties of winter wheat: *Triticum aestivum* L. (cv. Hondia) and *Triticum spelta* L. (cv. Rokosz). DNA was isolated by DNeasy Power Lyzer Power Soil Kit (QIAGEN). Next Generation Sequencing was performed with MiSeq 2000 Illumina technology (Genomed SA, Warszawa).

The endophytic microbiome was characterized by a wide variety depending on wheat species and the host organism. The studied species of winter wheat have three common genera of endophytic bacteria: *Pseudomonas*, *Flavobacterium* and *Janthinobacterium*. The specific endophytic microbiome is colonized by the bacteria belonging to: *Paenibacillus* sp. (in *T. aestivum* cv. Hondia) and *Pedobacter* sp., as well as *Duganella* sp. (in *T. spelta* cv. Rokosz).

Metagenomiczne rozpoznanie struktury Actinobacteria w glebach rolniczych i nieuprawianych Lubelszczyzny

Agnieszka Wolińska¹, Dorota Górniak², Urszula Zielenkiewicz³,
Agnieszka Kuźniar¹, Agata Goryluk-Salmonowicz⁴, Mieczysław Błaszczyk⁴

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

²Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Mikrobiologii, ul. Oczapowskiego 1a,
10-719 Olsztyn

³Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Zakład Biochemii Drobnoustrojów, ul. Pawińskiego 5a,
02-206 Warszawa

⁴Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów,
ul. Nowoursynowska 159/37, 02-776 Warszawa

Celem badań było rozpoznanie struktury Actinobacteria w glebach uprawianych (C) na tle gleb nieuprawianych (NC), po to by wyznaczyć ich wrażliwość na rolnicze użytkowanie gleb, genezę ich powstania oraz by wskazać na czynniki warunkujące liczebność Actinobacteria w glebach.

Sekwencjonowanie Następnej Generacji metagenomowych amplikonów genu 16S rRNA (technologia Ion Torrent™) oraz elektroforeza w gradiencie czynnika denaturującego (DGGE) zostały zastosowane do precyzyjnego rozpoznania ich bioróżnorodności. Generalnie, wyższa bioróżnorodność cechowała gleby NC w porównaniu do C. Ponadto, zauważono, że różnorodność Actinobacteria warunkowana jest bardziej typem i/lub genezą formowania gleby aniżeli sposobem jej użytkowania. Dwa czynniki: potencjał oksydoredukcyjny (Eh) oraz całkowity węgiel (TC) istotnie warunkowały różnorodność i liczebność Actinobacteria. Bardziej szczegółowo, Actinobacteria zasiedlające gleby NC wykazywały większe powinowactwo do siebie i pozostawały pod wyraźnym wpływem Eh, zaś na te zasiedlające gleby C wyraźnie wpływał TC.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu SONATA5 nr DEC-2013/09/D/NZ9/02482

Metagenomic recognition of Actinobacteria structure in cultivated and non-cultivated soils from Lubelskie region

The aim of the study was to determine the Actinobacteria structure in the cultivated (C) versus non-cultivated (NC) soils, in order to assess their sensitivity to agricultural soil use, soil genesis and to identify factors affecting the Actinobacteria abundance.

Next generation sequencing of the 16S rRNA metagenomic amplicons (Ion Torrent™ technology) and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) were applied for precise determination of biodiversity. Generally, greater biodiversity of Actinobacteria in the NC soils relative to the C soils was found. Moreover, it was indicated that the actinobacterial diversity depended more on the soil type and/or genesis and less on the land use. The two factors: redox potential (Eh) and total carbon (TC) had a significant effect on Actinobacteria diversity and abundance. More precisely, Actinobacteria from the NC soils displayed a greater affinity for each other and were clearly influenced by Eh, whilst those from the C soils was mostly influenced by TC.

Metagenomy strefy ryzosferowej różnych odmian pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.)

Agnieszka Wolińska, Agnieszka Kuźniar, Kinga Włodarczyk,
Anna Sochaczewska

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

Celem badań było metagenomiczne rozpoznanie bioróżnorodności bakterii, zasiedlających ryzosferę różnych odmian pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.). Do doświadczenia wytypowano 4 odmiany pszenicy zwyczajnych: Hondia, Tytanika, Nordkap i Rotax uprawiane w systemie bezorkowym. Gleby ryzosferowe (0-20 cm) pobierano za pomocą łaski Egnera z terenu poletek doświadczalno wdrożeniowych w Pożogu II, należących do Lubelskiego Ośrodka Doradztwa Rolniczego w Końskowoli.

Z zastosowaniem metod potencjometrycznych wyznaczono odczyn (pH) oraz potencjał oksydoredukcyjny (Eh) badanych gleb. Określono ponadto ich zasobność w węgiel (Shimadzu TOC-V_{CSH}) oraz biodostępne formy azotu i fosforu (Bran+Luebbe AAI/AAIII). DNA wyizolowano z gleb za pomocą zestawu DNeasy Power Lyzer Power Soil Kit (QIAGEN). Sekwencjonowanie Następnej Generacji przeprowadzono w technologii MiSeq 2000 Illumina (Genomed SA, Warszawa).

Uzyskane wyniki pozwoliły na metagenomiczne rozpoznanie bioróżnorodności bakterii ryzosferowych zasiedlających otoczenie korzeni 4 odmian pszenicy na różnych poziomach taksonomicznych (od typów do rodzajów).

*Projekt finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu
LIDER IX – 0024/L-9/2017*

Rhizospheric zone metagenomes of different wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars

The aim of the study was metagenomic recognition of bacterial biodiversity, inhabiting rhizosphere of different wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Four cultivars of wheat were selected for the experiment: Hondia, Tytanika, Nordkap and Rotax grown in ploughless system. Rhizospheric soils (0-20 cm) were taken with Egner's bow from the field of experimental and implementation plots in Pożóg II, belonging to the Lublin Agricultural Advisory Center in Końskowola.

Soil acidity (pH) and redox potential (Eh) were determined using potentiometric methods. In addition, carbon content (Shimadzu TOC-V_{CSH}) and bioavailable forms of nitrogen and phosphorus (Bran+Luebbe AAI/AAIII) were measured. DNA was isolated by DNeasy Power Lyzer Power Soil Kit (QIAGEN). Next Generation Sequencing was performed with MiSeq 2000 Illumina technology (Genomed SA, Warszawa).

The results obtained allowed on metagenomic identification of rhizospheric bacteria biodiversity, inhabiting roots zone of the 4 wheat cultivars on the different taxonomic levels (from phyla to genera).

Struktura zbiorowisk bakterii w glebie zanieczyszczonej BPF

Magdalena Zaborowska¹, Jadwiga Wyszowska¹, Jan Kucharski¹

¹Katedra Mikrobiologii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Zachowanie różnorodności biologicznej jest nadrzędnym celem w zarządzaniu środowiskiem glebowym generującym szereg dalekosiężnych inicjatyw. Jedną z nich rozwija się na kanwie rosnącego zainteresowania bisfenolem F (BPF). Kluczowym celem badań było określenie skali potencjalnie negatywnego oddziaływania BPF na liczebność i różnorodność mikroorganizmów glebowych. Istotnym kierunkiem eksperymentu było również wyeksponowanie rezerwuaru możliwości drobnoustrojów w przemianach BPF poprzez zastosowanie bioaugmentacji gleby konsorcjum bakterii: *Pseudomonas umsongensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus weihenstephanensis*, *Bacillus subtilis* oraz konsorcjum grzybów: *Mucor circinelloides*, *Penicillium daleae*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*. W randze *Phylum* najczęściej występowały *Proteobacteria* > *Actinobacteria* > *Firmicutes*. Istotne zmiany odnotowano na poziomie gatunku. W obiektach niezanieczyszczonych BPF stwierdzono dominację *Bacillus aryabhatai*, *Microcoleus vaginatus* i *Candidatus Scalindua brodae*, a w glebie zanieczyszczonej: *Pseudomonas koreensis*, *Pseudomonas xenophagum* i *Pseudomonas vancouverensis*. W glebie z konsorcjum bakterii dominował *Hydrogenophaga pseudoflava*, a w glebie z inokulum grzybów *Sphingobium xenophagum*. Bioaugmentacja gleby przyczyniła się zarówno do wzrostu różnorodności mikroorganizmów glebowych jak i przyspieszenia degradacji BPF w glebie.

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

Structure of bacterial communities in soil contaminated with BPF*

Preserving biodiversity is the overarching aim in managing the soil environment that generates a range of far-reaching initiatives. One of them develops on the basis of the growing interest in bisphenol F (BPF). The key objective of the research was to determine the scale of the potentially negative impact of BPF on the number and diversity of soil microorganisms. An important direction of the experiment was also the exposure of the reservoir of microbial potential in the transformation of BPF through the use of soil bioaugmentation of the bacterial consortium: *Pseudomonas umsongensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus weihenstephanensis*, *Bacillus subtilis* and a consortium of mould fungi: *Mucor circinelloides*, *Penicillium daleae*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*. In the *Phylum* rank, the most common were *Proteobacteria* > *Actinobacteria* > *Firmicutes*. Significant changes were seen at the species level. The *Bacillus aryabhatai*, *Microcoleus vaginatus* and *Candidatus Scalindua brodae* were dominant in facility not contaminated with BPF, and in the contaminated soil: *Pseudomonas koreensis*, *Pseudomonas xenophagum*, and *Pseudomonas vancouverensis*. The *Hydrogenophaga pseudoflava* predominated in the soil with the consortium of bacteria, and *Sphingobium xenophagum* dominated in the soil with fungal inoculum. Soil bioaugmentation has contributed to both the increase in the diversity of soil microorganisms and the acceleration of the degradation of BPF in soil.

The research was financed by the National Science Center (Project MINIATURA1) and co-financed by the Polish Ministry of Science and Higher Education funds for statutory activity.



Metagenomika
aplikacyjna



Bakterie i grzyby w lekkiej i kwaśnej glebie: studium przypadku w województwie wielkopolskim

Fatema Bakro, Joanna Kaczmarek, Małgorzata Jędrzycka

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

Celem pracy była identyfikacja zbiorowiska mikroorganizmów w lekkiej i kwaśnej glebie, typowej dla Wielkopolski. W badaniu zastosowano metodę Shotgun stosując system MiSeq Illumina. Izolację DNA przeprowadzono za pomocą zestawu ZymoBIOMICS™ DNA Microprep Kit dla próbek gleby rolniczej, nienawożonej, zebranej w Cerekwicy koło Szamotuł (N 52°31'14,6", E 16°41'40,4"). Bibliotekę DNA przygotowano stosując TrueQuant DNA Library Preparation Kit, zgodnie z metodyką GenXPro Trial Kit dla 6 RX. Klasyfikację przeprowadzono przy użyciu Kracken NGS, a mapowanie odczytów do standardowej bazy danych przygotowano przy zastosowaniu Bowtie2. Uzyskane wyniki wskazały, że 5,90% z 10 milionów odczytów zostało sklasyfikowanych jako bakterie, a 0,06% jako grzyby. Rodzaj *Fusarium* stanowił 90,45% wszystkich grzybów, a dominującym gatunkiem był *Fusarium oxysporum* (23,63%). W obrębie bakterii rodzina *Streptomycetaceae* stanowiła 89,97% wszystkich bakterii zidentyfikowanych w próbce, a najliczniej występującym gatunkiem był *Streptomyces fungicidicus* (9,27% całej rodziny *Streptomycetaceae*), a następnie *S. xiamenensis* (5,24%) oraz *S. bingcheng* (1,89%).

FB jest zatrudniona ze środków projektu ERACHairs 2013-1-621321 [BIO-TALENT] finansowanego przez Komisję Europejską, dofinansowanego przez MNiSW projekt W26/7.PR/2015[GA 3113/7.PR/2], 2015-2019

Bacteria and fungi in light and acidic soil: a case study from Great Poland region

The aim of this study was to identify microorganisms present in the light and acidic soil, typical for Great Poland. The study used Shotgun method- Illumina MiSeq approach. The DNA was extracted using ZymoBIOMICS™ DNA MicroPrep Kit from soil sample of unfertilized agricultural soil collected in Cerekwica near Szamotuły (N 52°31'14.6", E 16°41'40.4"). Library preparation was according to TrueQuant DNA Library Preparation Kit protocol by GenXPro Trial Kit for 6 RX. Data processing was done using Kracken NGS and mapping the data against the standard database using Bowtie2 tool. The results of mapping against the standard database displayed that 5.90% of the total 10 million reads was classified as bacteria and 0.06% was classified as fungi. *Fusarium* genus constituted 90.45% of all fungi and the dominating species was *Fusarium oxysporum* (23.63%). Within bacteria, *Streptomycetaceae* family constituted 89.97% of all bacteria identified in the sample and *Streptomyces fungicidicus* was the most abundant species (9.27% of total *Streptomycetaceae* family), followed by *S. xiamenensis* (5.24%) and *S. bingcheng* (1.89%).

FB work was funded by the EU project ERACHairs 2013-1-621321 [BIO-TALENT] and co-financed by funds allocated for education through project W26/7.PR/2015[GA 3113/7.PR/2] for the years 2015-2019

Identyfikacja i analiza molekularna genu oraz regionu promotorowego FAD-zależnej dehydrogenazy glukozywej *Aspergillus terreus* F 413

Beata Ciołek¹, Grzegorz Janusz¹, Jerzy Rogalski¹

Uniwersytet Marii-Curie Skłodowskiej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Biochemii

Dehydrogenaza glukozywa FAD zależna (FAD-GDH) cieszy się dużym zainteresowaniem ze względu na możliwość jej zastosowania jako elementu modyfikującego bioanody w bioczuJNIKACH glukozy, glukometrach oraz hybrydowych i enzymatycznych ogniwach paliwowych. FAD-GDH są oksydoreduktazami, które utleniają glukozę w obecności różnych zewnętrznych akceptorów elektronów (z wyłączeniem tlenu). We wcześniejszych badaniach spośród 13 szczepów *Aspergillus* wybraliśmy dwóch nadproducentów FAD-zależnej dehydrogenazy glukozywej (*Aspergillus niger* 13/48 i *Aspergillus terreus* F413). Celem prezentowanej pracy było wyizolowanie i zsekwencjonowanie genu kodującego GDH oraz analiza molekularna jego regionu promotorowego u *A.terreus* F413. Uzyskana sekwencja nukleotydyowa genu *gdh* składa się z 1893pz zawierających 54,52% wiązań G-C i koduje funkcjonalne białko składające się z 631 aminokwasów, a peptyd sygnałny zbudowany jest z 23 aminokwasów. Ponadto w badanej sekwencji zlokalizowano 7 potencjalnych miejsc N-glikozylacji (Asn-X-Ser/Thr) białka dehydrogenazy glukozywej. Region promotorowy genu *gdh* rozciąga się na długości 1058 pz przed kodonem ATG. Region ten zawiera cztery motywy CAAT, dwa NIT2 oraz po jednym motywie creA, ARE i XRE.

The identification and molecular analysis of FAD-dependent glucose dehydrogenase and its promoter in *Asperillus terreus* F413

FAD-glucose dehydrogenase (FAD-GDH) is of interest for its potential to application as a modifying element of bioanodes in biosensors of glucose, glucometers as well as hybrid and enzymatic fuel cells. FAD-GDH are defined as oxidoreductases that are able to catalyze the oxidation of glucose in the presence of a variety of external electron acceptor (but not oxygen). In the earlier studies among 13 strains *Aspergillus* we chose 2 overproducers of FAD-dependent glucose dehydrogenase (*Aspergillus niger* 13/48 and *Aspergillus terreus* F413). The goal of the presented work was to isolate and sequence the gene corresponding to the glucose dehydrogenase protein and molecular analysis its gene promoter in *A terreus* F413. The *gdh* gene analysis revealed one open reading frame (ORF) of 1893 bp, with a G-C content of 54,52% and coding for a 631-amino acid hypothetical protein possessing a signal sequence within the first 22 amino acids. The amino acid sequence of glucose dehydrogenase gene was also found to contain 7 potential N-glycosylation sites (Asn-X-Ser/Thr). The promoter region of this gene was localized at nucleotide position -1058 upstream ORF. The promoter region contains four CAAT element, two NIT2 and one creA, ARE and XRE elements.

Identyfikacja gatunków z rodzaju *Fusarium* w ekologicznej uprawie kukurydzy

Anna Czubacka*, Diana Czarnecka, Monika Agacka-Mołdoch, Jerzy Księżak

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy

*annacz@iung.pulawy.pl

Kukurydza jest gatunkiem coraz chętniej uprawianym w Polsce ze względu na jej szerokie zastosowanie w żywieniu ludzi i zwierząt, a także w przemyśle. Jednocześnie rośnie zainteresowanie uprawą ekologiczną, która umożliwia uzyskanie plonu dobrej jakości przy zmniejszonych kosztach produkcji. Jednak ze względu na brak możliwości stosowania chemicznych środków ochrony roślin, tego typu uprawy narażone są na występowanie licznych patogenów. Istotnym zagrożeniem są gatunki z rodzaju *Fusarium* wytwarzające mykotoksyny szkodliwe dla ludzi i zwierząt. W badaniach prowadzonych w latach 2017 i 2018 dokonano identyfikacji gatunków grzybów *Fusarium* porażających kukurydzę z plantacji ekologicznej. Z porażonych kolb pobierano ziarna, które po powierzchniowym odkażeniu wykładano na pożywkę mineralną. Uzyskane czyste kultury grzybów były oceniane makro- i mikroskopowo. Następnie z grzybni izolowano DNA, które posłużyło do molekularnej identyfikacji gatunków. Analizy prowadzono poprzez amplifikację DNA metodą PCR przy użyciu specyficznych starterów. W obu latach wśród badanych izolatów *Fusarium* dominował gatunek *F. oxysporum*. Ponadto stwierdzono obecność gatunków *F. poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*, a w roku 2018 dodatkowo *F. proliferatum* i *F. verticillioides*.

Identification of *Fusarium* species in organic maize crops

Maize is a species more and more willingly cultivated in Poland due to its wide application in human and animal nutrition as well as in industry. Simultaneously, interest in organic farming is growing because it enables to obtain a good quality crop with reduced production costs. However, due to inability to use chemical plant protection products, such crops are exposed to the infection with numerous pathogens. *Fusarium* species, that produce mycotoxins harmful to humans and animals, are an important threat for crops. In studies carried out in 2017 and 2018, the identification of *Fusarium* species, that infested organic maize, was made. Grains were collected from infected cobs, which were surface decontaminated and then were put on a mineral medium. The obtained pure fungal cultures were assessed macro- and microscopically. DNA was isolated from the mycelium, which served to molecular species identification. The analyzes were performed by PCR amplification using specific primers. In both years, *F. oxysporum* was the dominant species within studied *Fusarium* isolates. In addition, the species *F. poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* were found, and in 2018 additionally *F. proliferatum* and *F. verticillioides*.

Porażenie odmian owsa zwyczajnego i nagoziarnistego przez patogeny grzybowe w systemie produkcji ekologicznej

Beata Feledyn-Szewczyk, Małgorzata Nakielska, Paweł Radzikowski

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

W rolnictwie ekologicznym choroby grzybowe są uważane za jeden z głównych czynników ograniczających plonowanie zbóż. W 2018 r. IUNG – PIB w Puławach we współpracy z COBORU utworzył ogólnokrajową sieć doświadczeń w systemie ekologicznym, tzw. „Ekologiczne Doświadczalnictwo Odmianowe (EDO)”. Celem prac była ocena najnowszych odmian owsa zwyczajnego i nagoziarnistego pod kątem ich przydatności dla rolnictwa ekologicznego. Ocenę porażenia przeprowadzono w skali 9-stopniowej, gdzie wyższe stopnie oznaczają większą odporność. Badania potwierdziły, że owies jest gatunkiem w małym stopniu porażanym przez patogeny grzybowe. Uprawiany w systemie ekologicznym wykazywał niewielkie porażenie przez *Puccinia coronata* Corda (rdza koronowa) i *Drechslera avenae* (Eidam) Scharif (helminthosporioza). Odmianami najbardziej podatnymi na rdzę koronową były Komfort (6,4) i Kozak (6,9) oraz mieszanka z udziałem tych odmian (6,5), a najbardziej odporne były Amant (8,1) i Nawigator (8,0). Helminthosporioza wystąpiła na wszystkich odmianach (7,2-7,8), przy czym odmiany nagoziarniste były bardziej odporne. Stwierdzono śladowe porażenie wiech przez grzyby z rodzaju *Fusarium* (0,1%). Porażenie przez patogeny grzybowe nie było czynnikiem istotnie ograniczającym plonowanie owsa w systemie ekologicznym.

Prace wykonano w ramach dotacji MRiRW na badania z zakresu rolnictwa ekologicznego nr: HOR.re.027.6.2018/3

Fungal infestation of husk and naked oat varieties (*Avena sativa* L. and *Avena nuda* L.) in the organic system

In organic agriculture, fungal diseases are considered to be one of the main factors limiting crop yielding. In 2018, IUNG - PIB in Puławy, in cooperation with COBORU, established a nation network of experimental organic farms, called "Variety Trials for Organic Agriculture (EDO)". The aim of the work was to evaluate the newest husk and naked oat varieties in terms of their suitability for organic farming. The assessment of the fungal diseases was carried out on a 9-point scale and the higher score means a greater resistance. Studies have confirmed that oat is little affected by fungal pathogens. Small infestation by *Puccinia coronata* Corda (corona rust) and *Drechslera avenae* (Eidam) Scharif (helminthosporiosis) was observed in organic system. The most susceptible varieties to *Puccinia coronata* were Komfort (6.4) and Kozak (6.9) and the mixture of these varieties (6.5), and the most resistant were Amant (8.1) and Navigator (8.0). Helminthosporiosis occurred on all varieties (7.2-7.8), with the naked oat varieties being more resistant. There was a trace infestation of oat panicles by *Fusarium* sp. fungi (0.1%). Infection by fungal pathogens was not a factor significantly limiting the yield of oat in organic farming.

The research was conducted under the project of Ministry of Agriculture and Rural Development No: HOR.re.027.6.2018/3

Wpływ izolatu bakteryjnego na wzrost i wybrane parametry biochemiczne *Phaseolus coccineus* L.

¹Agnieszka Hanaka, ²Artur Nowak, ²Ewa Ozimek, ²Małgorzata Majewska, ²Jolanta Jaroszuk-Ściśel, ¹Sławomir Dresler, ¹Emilia Reszczyńska, ¹Izabela Borkowska, ¹Małgorzata Wójcik

¹Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii i Biochemii,

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

Badano wpływ izolatu bakteryjnego na wzrost, pojemność antyoksydacyjną (AC), zawartość barwników fotosyntetycznych (chlorofilu *a*, *b* i karotenoidów), flawonoidów (FLAVO), związków fenolowych (PC), niskocząsteczkowych kwasów organicznych (LMWOA) i alantoiny (ALLA) fasoli wielokwiatowej, *Phaseolus coccineus* L. Izolat bakteryjny otrzymano z gleby Spitsbergenu i zidentyfikowano biochemicznie jako Gram-ujemny *Pseudomonas luteola*.

W roślinach szczepionych izolatem nie stwierdzono zmian biomasy, AC, zawartości barwników fotosyntetycznych i FLAVO. Zaobserwowano natomiast obniżenie PC w liściach oraz zawartości LMWOA: podwyższenie stężenia winianu w liściach, oraz obniżenie stężenia jabłczanu w liściach oraz jabłczanu, winianu i bursztynianu w korzeniach. W roślinach szczepionych izolatem potwierdzono obniżenie stężenia ALLA w liściach i korzeniach. Izolat wykazywał wyższy potencjał modyfikowania parametrów biochemicznych niż parametrów wzrostu fasoli.

Badania były częściowo finansowane i realizowane w ramach projektu Narodowego Centrum Nauki, nr 2017/01/X/NZ8/00859.

The effect of the bacterial isolate on *Phaseolus coccineus* L. growth and selected biochemical parameters

The effect of bacterial isolate on growth, antioxidant capacity (AC), content of photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, *b* and carotenoids), flavonoids (FLAVO), phenolic compounds (PC), low molecular weight organic acids (LMWOA) and allantoin (ALLA) of runner bean, *Phaseolus coccineus* L. was studied. Bacterial isolate was obtained from Spitsbergen soil and was identified biochemically as Gram-negative *Pseudomonas luteola*.

In the inoculated plants, the changes in the biomass of plants, AC, the content of photosynthetic pigments and FLAVO were not confirmed. However, it influenced the reduction of PC in the leaves and the content of LMWOA: increased the concentration of tartrate in the leaves, and decreased the concentration of malate in the leaves and malate, tartrate and succinate in the roots. In the inoculated plants, lowered ALLA concentration in leaves and roots was proved. The isolate showed a higher potential to modify biochemical parameters than the growth parameters of runner bean.

This research was partially supported by the Polish National Science Centre, project number 2017/01/X/NZ8/00859.

Ocena różnorodności grzybów w glebie ryzosferowej roślin pomidora i ogórka traktowanych bionawozami

Anna Lisek, Lidia Sas-Paszt, Paweł Trzciniński, Edyta Derkowska, Beata Sumorok, Urszula Smolińska

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

Celem badań była ocena różnorodności grzybów w glebie ryzosferowej traktowanej nowo opracowanymi bionawozami w uprawie roślin pomidora i ogórka oraz w glebie kontrolnej (nie nawożonej bionawozami). W wyniku analizy PCR-DGGE w oparciu o gen 18S rRNA uzyskano od 7 do 13 prążków dla każdej z prób gleby ryzosferowej pochodzącej z uprawy pomidora lub ogórka. Wynik ten wskazuje na obecność 13 genotypów grzybów w glebie ryzosferowej pomidora i ogórka nawożonych bionawozami, w porównaniu do gleby kontrolnej (nie nawożonej bionawozami), w której odnotowano tylko 7 genotypów grzybów. Stwierdzono korzystne działanie bionawozów na zwiększenie stopnia asocjacji mykoryzowej w korzeniach roślin pomidora i ogórka oraz na zwiększenie populacji grzybów strzępkowych w ryzosferze roślin ogórka i pomidora. Uzyskane wyniki posłużą do określenia obecności i przeżywalności pożytecznych mikroorganizmów użytych do mikrobiologicznego wzbogacenia nowo opracowanych nawozów mineralnych.

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

Assessment of the diversity of fungi in the rhizosphere soil of tomato and cucumber plants treated with biofertilizers

The aim of the research was to assess the diversity of fungi in the rhizosphere soil treated with newly developed biofertilizers in the cultivation of tomato and cucumber plants, and in the control soil (not fertilized with biofertilizers). A PCR-DGGE analysis based on the 18S rRNA gene produced from 7 to 13 bands for each rhizosphere soil sample from tomato or cucumber cultivation. The result indicated the presence of 13 fungal genotypes in the rhizosphere soil of tomato and cucumber plants fertilized with biofertilizers, in comparison with the control soil (not fertilized with biofertilizers), in which only 7 fungal genotypes were recorded. The biofertilizers were found to have a beneficial effect on increasing the degree of mycorrhizal association in the roots of tomato and cucumber plants, and on increasing the population of filamentous fungi in the rhizosphere of cucumber and tomato plants. The obtained results will be used to determine the presence and survivability of the beneficial microorganisms used for the microbial enrichment of newly developed mineral fertilizers.

This paper was financed by the National Centre for Research and Development as part of the BIOSTRATEG programme, contract number: BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018.

Przegląd preparatów mikrobiologicznych do ochrony truskawki w ekologicznym systemie produkcji

Małgorzata Nakielska, Beata Feledyn-Szewczyk

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

W ostatnich latach dzięki wzrastającej świadomości konsumentów coraz większym zainteresowaniem cieszy się żywność produkowana w systemie ekologicznym. Na stronie Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi zamieszczona jest lista środków ochrony roślin dopuszczonych do stosowania w produkcji ekologicznej. Znajduje się na niej dziesięć preparatów mikrobiologicznych do stosowania w ochronie truskawki: 5 insektycydów (1020, Lepinox Plus, Met52 granular, NATURALIS, XenTari WG) oraz 5 fungicydów (Amylo-X WG, POLYVERSUM WP, PRESTOP WP, REMEDIER, SERENADE ASO). Spośród insektycydów Met52 granular oraz 1020 zwalczają opuchlaka truskawkowca. XenTari WG zwalcza gąsienice uszkadzających liście, a Lepinox Plus gąsienice motyli sówkowatych, natomiast NATURALIS zabija przędziorka chmielowca (*Teranychus urticae*) i wciornastki (*Thysanoptera*). W grupie fungicydów wszystkie z wyjątkiem preparatu REMEDIER działają na *Botrytis cinerea* Pers. wywołującego szarą pleśń. Amylo-X WG oraz POLYVERSUM WP zwalczają dodatkowo mączniaka prawdziwego. Ponadto POLYVERSUM WP chroni również przed skórzastą zgnilizną owoców, białą plamistością liści oraz czerwoną plamistością liści. Mikroorganizmy zawarte w preparacie REMEDIER działają antagonistycznie na patogena wywołującego czerwoną zgniliznę korzeni truskawki.

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

Review of microbiological products for strawberry protection in organic system

In recent years, as a result of growing consumer awareness, organic food has become more and more popular. On the website of the Ministry of Agriculture and Rural Development there is a list of plant protection products approved for use in organic production. It contains ten microbiological products for use in strawberry protection: 5 insecticides (1020, Lepinox Plus, Met52 granular, NATURALIS, XenTari WG) and 5 fungicides (Amylo-X WG, POLYVERSUM WP, PRESTOP WP, REMEDIER, SERENADE ASO). Among the insecticides, Met52 granular and 1020 fight the swelling of strawberries. XenTari WG fights caterpillars damaging leaves, and Lepinox Plus combats caterpillars of the *Noctuidae* butterfly family while NATURALIS kills *Tetranychus urticae* and *Thysanoptera*. All these fungicides, with the exception of REMEDIER, act on *Botrytis cinerea* Pers. which causes grey mould. Amylo-X WG and POLYVERSUM WP additionally fight against powdery mildew. In addition, POLYVERSUM WP also works on leathery fruit rot, white spotted leaves as well as red spotted leaves. REMEDIER acts the red rot of strawberry roots.

This paper was financed (co-financed) by The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

Analiza FTIR jako narzędzie wykazujące zróżnicowanie egzopolimerów (EPS) grzybów Ascomycota należących do rodzajów *Fusarium*, *Trichoderma* i *Penicillium*

Artur Nowak¹, Jolanta Jaroszuk-Ścisiel¹, Anna Jarosz-Wilkolazka²,
Monika Osieńska-Jaroszuk², Marzena Gęca², Dorota Kołodyńska²

¹Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, ²Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii,

³Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej,
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Spektroskopia w podczerwieni (FTIR) pozwala określić m.in. budowę związków o złożonych strukturach, takich jak polimery zewnątrzkomórkowe (EPS), na podstawie charakterystycznych podstawników i wiązań. Ich obecność powoduje drgania w widmie podczerwieni (IR) przy określonych długościach falowych. Analizie metodą FTIR-ATR poddano zliofilizowane preparaty EPS otrzymane poprzez precypitację etanolem (1:1)

z płynów pochodzących z kultur szczepów *Fusarium* spp.: *F. avenaceum* Fa4, *F. oxysporum* Fo14, *F. graminearum* Fg36, *F. culmorum* Fc2, Fc5, Fc37; *Trichoderma*: *T. harzianum* Th32Ag3, *T. koningiopsis* Tkz3A0, *T. reesei* TrF560 oraz *Penicillium*: *P. simplicissimum* Ps4Ag0, *P. paneum* Pp7, *P. commune* Pc46. W widmach uzyskanych dla wszystkich testowanych EPS drgania przy 880 cm⁻¹, świadczą o obecności wiązań β-, charakterystycznych dla polimerów cukrowych, przy czym dla EPS szczepów Pp7 i Pc46, były one niskie. Obecność w tych EPS pasma przy 1060 cm⁻¹, potwierdziła ich polisacharydowy charakter a budujące je monosacharydy najprawdopodobniej posiadają pierścień piranozowy. Jedynie w EPS szczepów *F. culmorum* nie obserwowano drgań przy 2900 cm⁻¹ świadczących o obecności alifatycznych i aromatycznych wiązań C-H. Zaś drgania przy 1640 cm⁻¹ wskazują na obecność związków fenolowych (C=C).

Grant dla młodych naukowców BS-M-11-010-18-2-10

The FTIR analysis as a tool demonstrating the differentiation of exopolymers (EPS) of Ascomycota fungi belonging to the genera *Fusarium*, *Trichoderma* and *Penicillium*

Infrared spectroscopy (FTIR) is a technique allowing to determine, among others, structure of compounds with complex structures, such as extracellular polymers (EPS), based on characteristic substituents and bonds. Their presence causes vibrations in the infrared (IR) spectrum at specific wavelengths. The FTIR-ATR analysis was subjected to lyophilized EPS preparations obtained by ethanol precipitation (1: 1) from culture liquids of *Fusarium* spp. Strains: *F. avenaceum* Fa4, *F. oxysporum* Fo14, *F. graminearum* Fg36, *F. culmorum* Fc2, Fc5, Fc37; *Trichoderma*: *T. harzianum* Th32Ag3, *T. koningiopsis* Tkz3A0, *T. reesei* TrF560 and *Penicillium*: *P. simplicissimum* Ps4Ag0, *P. paneum* Pp7, *P. commune* Pc46. In the spectra obtained for all EPS tested vibrations at 880 cm⁻¹, they show the presence of β- linkages characteristic for sugar polymers, whereas for EPS strains Pp7 and Pc46, they were low. The presence in these EPS bands at 1060 cm⁻¹, confirmed their polysaccharide character and the monosaccharides that build them most likely have a pyranose ring. Only in EPS of *F. culmorum* strains, no vibrations at 2900 cm⁻¹ were observed indicating the presence of aliphatic and aromatic C-H bonds. Vibrations at 1640 cm⁻¹ indicate the presence of phenolic compounds (C=C).

Aktywność markerów odporności roślin indukowana trzema frakcjami polimerów (WPS, IPS, EPS) pochodzącymi od szczepu *Trichoderma koningiopsis* (DEMTkZ3A0)

Artur Nowak, Renata Tyśkiewicz, Anna Słomka, Ewa Ozimek, Małgorzata Majewska, Jolanta Jaroszuk-Ściśeł

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

Skuteczność biologicznej ochrony roślin najlepiej zapewnić wspomagając bezpośrednie działanie mikroorganizmów biokontrolnych czynnikami pośrednio-indukującymi odporność roślin (elicitorami). W preparatach dąży się do zastąpienia mikroorganizmów ich metabolitami i składnikami morfotycznymi o właściwościach elicytorowych. Ważną grupą elicytorów są polimery cukrowe (PS): ścianowe (WPS), zewnątrzkomórkowe (EPS) i wewnątrzkomórkowe (IPS). Z grzybni i płynów pochodzących szczepu *Trichoderma koningiopsis* (DEMTkZ3A0) uzyskano WPS, IPS i EPS na drodze ekstrakcji: kwasowej, termicznej i alkoholowej. Nasiona pszenicy były indukowane 0,05% PS i poddawane 5- i 10-dniowej inkubacji. W łodygach i korzeniach oznaczano enzymy markerowe (PAL, TAL, GPX, APX, CAT, GLUK i CHIT). Po indukcji WPS i EPS aktywność PAL w łodygach była 4-krotnie (1200-1700U) wyższa niż w kontroli wodnej 5. dnia, TAL (1000-1200U) 10-tego dnia, a CAT 1,5-krotnie (40U) 5-tego dnia i wzrastała 2-krotnie 10. dnia. Aktywność peroksydazy APX w łodygach była niższa 3-krotnie (10U) a GPX wyższa 2-krotnie (300-400U) natomiast w korzeniach GPX była wyższa 2-krotnie (240U) 5. i 4-krotnie razy (480U) 10. dnia a APX (50-100U) równa kontroli. Aktywności GLUK (30-40U) wzrastała 2-krotnie 10. dnia, a CHIT wzrastał maksymalnie 1,5-krotnie 5. dnia.

Grant dla młodych naukowców BS-M-11-010-18-2-10

The activity of plant resistance markers induced by three polymer fractions (WPS, IPS, EPS) derived from *Trichoderma koningiopsis* strain (DEMTkZ3A0)

direct action of biocontrol microorganisms with factors indirectly inducing plant resistance (elicitors) is the most efficient method to ensure the effectiveness of biological plant protection. The preparations are aimed at replacing microorganisms with their metabolites and morphotic components with elicitor properties. An important group of elicitors are sugar (PS) polymers: wall (WPS), extracellular (EPS) and intracellular (IPS). Mycelium and culture fluids of the *Trichoderma koningiopsis* strain (DEMTkZ3A0) resulted in WPS, IPS and EPS by extraction: acid, thermal and alcohol. Wheat seeds were induced 0.05% PS and subjected to 5- and 10-day incubation. Marker enzymes (PAL, TAL, GPX, APX, CAT, GLUK and CHIT) were determined in stems and roots. After induction of WPS and EPS, the activity of PAL in the stems was 4 times (1200-1700U) higher than in the water control of the 5th day, TAL (1000-1200U) on the 10th day and the CAT 1.5 times (40U) 5 that day and increased twice on the 10th day. APX peroxidase activity in the stems was lower 3 times (10U) and GPX 2 times higher (300-400U) while in GPX roots it was higher 2 times (240U) 5. and 4 times (480U) on the 10th day of APX (50-100U) equals control. GLUK (30-40U) activity increased twice on the 10th day, and CHIT increased up to 1.5-fold on the 5th day.

Identyfikacja gatunków grzybów izolowanych z korzeni siewek oraz kwitnących roślin soi – porównanie dwóch faz rozwojowych

Hanna Olszak-Przybyś¹, Grażyna Korbecka-Glinka¹, Anna Czubačka¹,
Wacław Jarecki², Ludmiła Koba³, Ruslan Monich³, Elżbieta Patkowska⁴

¹ Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, ² Uniwersytet Rzeszowski, ul. A. Zelwerowicza 4, 35-601 Rzeszów, ³ Naukowo Badawcze Centrum Rozwoju Soi “AgeSoya”, ul. Długa 50a, 37-413 Huta Krzeszowska, ⁴ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Soja jest wartościową rośliną uprawianą na potrzeby produkcji pasz oraz żywności. Areal uprawy soi w Polsce dynamicznie rośnie w ostatnich latach, co może doprowadzić do wzrostu presji ze strony grzybów chorobotwórczych. Celem prezentowanych badań było określenie składu gatunkowego grzybów zasiedlających rośliny soi w dwóch różnych fazach rozwojowych: w fazie siewek oraz rośliny w fazie kwitnienia.

Materiał badawczy stanowiły rośliny siedmiu odmian soi firmy AgeSoya (Annushka, Atlanta, Lajma, Madlen, Mavka, Smuglyanka, Violetta) pobrane w czerwcu oraz lipcu 2018 na polu doświadczalnym zlokalizowanym w województwie podkarpackim. Badaniom poddano rośliny o wyraźnie zahamowanym wzroście, oraz rośliny z ciemno-brązowymi plamami na szyjce korzeniowej i podstawie łodygi. Z fragmentów roślin wyizolowano kultury grzybów, które po odszczepieniu na różne podłoża hodowlane poddano identyfikacji gatunkowej metodami mikroskopowymi oraz molekularnymi przy pomocy PCR z gatunkowo specyficznymi starterami.

Z 49 roślin pobranych do badań w każdej fazie rozwojowej otrzymano 289 oraz 325 izolatów grzybów dla próbek pobranych odpowiednio w czerwcu i lipcu. Najczęściej izolowano grzyby z rodzaju *Fusarium*, które stanowiły 80-84% wszystkich izolatów. Poza dominującym gatunkiem *F. oxysporum*, inne *Fusarium* spp. (m. in. *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* oraz *F. sporotrichioides*) stanowiły łącznie 4% oraz 20% izolatów odpowiednio z roślin pobranych w czerwcu i lipcu. Gatunek *Neocosmospora solani* (dawniej *F. solani*) stwierdzono tylko w materiale pobranym z siewek soi (5% izolatów pozyskanych w czerwcu). Natomiast z roślin kwitnących częściej izolowano *Alternaria alternata* (10% izolatów); z siewek pozyskano tylko jeden izolat tego grzyba, co stanowiło tylko 0,3% wszystkich izolatów. Niniejsze wyniki przyczynią się do poszerzenia wiedzy na temat zagrożenia jakie stanowią poszczególne gatunki grzybów dla soi w różnych fazach rozwojowych.

Badania były realizowane w ramach projektu BIOSOYCOAT finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” - BIOSTRATEG. Umowa nr BIOSTRATEG3/346390/4/NCBR/2017.

Species identification of fungi isolated from soybean seedlings and plants at anthesis – comparison of two developmental stages

Soybean is a valuable crop cultivated for production of human food and animal feed. A dynamic increase of cultivation area in Poland over the last years may lead to the increased pressure from pathogenic fungi. This research aims at species determination of fungi isolated from soybean plants at two developmental stages: from seedlings and plants at anthesis.

Samples were collected in June and July 2018, from seven soybean cultivars of AgeSoya company (Annushka, Atlanta, Lajma, Madlen, Mavka, Smuglyanka, Violetta), grown in the field located in podkarpackie voivodship. Sampled plants showed symptoms of dark brown lesions on the root/base of the stem or retarded growth. Fungal cultures obtained from fragments of plants were grown on different media and subjected to species determination by means of microscopic and molecular methods using PCRs with species-specific primers.

Out of 49 plants sampled at each collection time, 289 and 325 fungal isolates were obtained from samples collected in June and July, respectively. Fungi belonging to *Fusarium* genus were the most frequently isolated, they comprised 80-84% of all isolates. Apart from a dominating species - *F. oxysporum*, other *Fusarium* species (*F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* and *F. sporotrichioides*) represented 4% and 20% of isolates obtained in June and July, respectively. Species *Neocosmospora solani* (formerly *F. solani*) was recorded only in samples collected from soybean seedlings (5% of isolates collected in June). On the other hand, *Alternaria alternata* was more frequently isolated from plant at anthesis (10% of isolates) compared to seedlings from which only one isolate was obtained (0.3% of all isolates). These results will contribute to the knowledge about fungi potentially pathogenic for soybean plants at different stages of plant development.

This research was carried out within BIOSOYCOAT project funded by the National Centre for Research and Development, within the framework of the strategic R&D programme „Environment, agriculture and forestry” –BIOSTRATEG. Contract no. BIOSTRATEG3/346390/4/NCBR/2017.

Porównanie wybranych metod izolacji DNA z gleby w badaniach metataksonomicznych

Jacek Panek, Dominika Malarczyk, Magdalena Frąć

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

Gleba uważana jest za jeden z najbardziej złożonych, zróżnicowanych i heterogennych ekosystemów. W glebie w większości występują mikroorganizmy, których nie można namnożyć i hodować w warunkach laboratoryjnych na standardowych podłożach mikrobiologicznych, co sprawia, że badania dotyczące zróżnicowania

i właściwości mikrobiomu glebowego są utrudnione. Problem ten częściowo rozwiązuje zastosowanie metod wysokoprzepustowego sekwencjonowania DNA, umożliwiając poznanie materiału genetycznego (metagenomika) oraz identyfikację całego zbiorowiska mikroorganizmów (metataksonomika), w tym mikroorganizmów wcześniej nieznanych. Jednym z najważniejszych kroków w badaniach metataksonomicznych jest izolacja DNA. Błąd systematyczny związany z izolacją DNA z mikroorganizmów glebowych może doprowadzić do przeszacowania lub niedoszacowania niektórych grup mikroorganizmów. W badaniach porównano popularnie wykorzystywane zestawy do izolacji DNA – Qiagen DNeasy PowerSoil, Macherey-Nagel NucleoSpin Soil, EURx GeneMATRIX Soil DNA Purification Kit oraz MPbio: FastDNA Spin Kit for Feces i FastDNA Spin Kit for Soil.

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

Comparison of selected methods of DNA isolation from soil in metataxonomics research

Soil is probably the most diverse, complex and heterogeneous biological ecosystem. Majority of microorganism inhabiting soil are reported to be viable but not culturable on standard microbiological media, trait that hinders the research of soil microbiome properties and diversity. High-throughput DNA sequencing methods partly solved that problem and enabled research of whole microbiome genome (metagenomics) and identify all microorganisms (metataxonomics), even those not known previously. The isolation of DNA from soil is one of the most important steps in metataxonomic studies. Bias introduced in DNA isolation step may lead to either overestimate or underestimate abundance of studied organisms. This study compared popular kits for DNA isolation - DNA – Qiagen DNeasy PowerSoil, Macherey-Nagel NucleoSpin Soil, EURx GeneMATRIX Soil DNA Purification Kit, MPbio: FastDNA Spin Kit for Feces and FastDNA Spin Kit for Soil.

This work was financed by The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018.

Mikrobiom glebowy towarzyszący kile kapusty na rzepaku: studium dwóch przypadków z północno-wschodniej Polski

Noor Ramzi¹, Joanna Kaczmarek¹, Katarzyna Marzec-Schmidt²,
Tomasz Cłapa³, Dorota Narożna³, Małgorzata Jędrzycka¹

¹ Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu; ² Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; ³ Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Celem badań była identyfikacja zbiorowiska mikroorganizmów towarzyszących porażeniu korzeni roślin rzepaku przez *Plasmodiophora brassicae*. Jest to pierwotniak należący do Rhizaria, powodujący kilę kapusty, groźną chorobę roślin kapustowatych w Polsce i na świecie. Choroba ta może powodować całkowitą utratę plonu, gdy gleba zawiera liczne zarodniki tego patogenu, a uprawiana odmiana pozbawiona jest odporności bądź tolerancji na kilę kapusty. Badano dwie próby gleby z północno-wschodniej Polski ze stanowisk z naturalnym silnym porażeniem roślin rzepaku. W badaniu zastosowano metodę Shotgun stosując system MiSeq Illumina. Izolację DNA przeprowadzono za pomocą metody Wallenhammar i in. (2012) oraz metody Zhou (1996) z modyfikacjami. Uzyskane wyniki wykazały, że 97% z 10 milionów odczytów zostało sklasyfikowanych jako bakterie, z których najliczniejsze były Proteobacteria (44%), z nich zaś 31 % stanowiły Alphaproteobacteria, w tym głównie Rhizobiales. Grzyby stanowiły jedynie 0,7% wykrytych mikroorganizmów, z nich zaś większość należała do Ascomycota a z nich najliczniejsze były rodzaje *Fusarium* (9%), *Trichoderma* (6%), *Purpureocillium* (4%) i *Aspergillus* (2%). Metoda izolacji miała znaczny wpływ na proporcje ilościowe badanych mikroorganizmów w próbce.

Badania finansowane przez MRiRW w programie Postęp Biologiczny, zadanie 50

Soil microbiome accompanying clubroot of oilseed rape: two case studies from north-east Poland

The aim of the study was to identify the community of microorganisms associated with the soil-borne disease of oilseed rape plants caused by *Plasmodiophora brassicae*. It is a protozoan microorganism belonging to Rhizaria, causing clubroot, a damaging disease of Brassicaceae plants in Poland and worldwide. This disease can lead to the total yield loss in fields where the soil contains numerous spores of this pathogen, and the cultivar is devoid of resistance or tolerance to clubroot. Two soil samples from north-eastern Poland were examined from sites with naturally strong plant infection. The test used the Shotgun method with the MiSeq Illumina system. DNA isolation was performed using the method by Wallenhammar et al. (2012) and the method described by Zhou (1996) with modifications. The obtained results indicated that 97% of 10 million reads were classified as bacteria, and the most numerous were Proteobacteria (44%), of which 31% were Alphaproteobacteria, mainly Rhizobiales. Fungi accounted only for 0.7% of the detected microorganisms, the majority of which belonged to Ascomycota. The most numerous genera were *Fusarium* (9%), *Trichoderma* (6%), *Purpureocillium* (4%) and *Aspergillus* (2%). The isolation method had a significant impact on the quantitative proportions of the microorganisms studied in the sample.

Metagenomowa analiza mikrobiomu jelitowego larw guniaka czerwczyka (*Amphimallon solstitiale* L.) pod kątem interakcji z symbiotycznymi bakteriami nicieni entomopatogenicznych

Ewa Sajnaga¹, Marcin Skowronek¹, Adrian Wiater², Małgorzata Pleszczyńska²,
Waldemar Kazimierczak¹, Magdalena Lis¹

¹Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

²Zakład Mikrobiologii Przemysłowej, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Nicienie entomopatogeniczne z rodzajów *Steinernema* i *Heterorhabditis* wchodzące w symbiozę z bakteriami z rodzajów *Xenorhabdus* oraz *Photorhabdus* są obecnie coraz częściej używane jako biopreparaty do zwalczania bytujących w glebie larw owadów. Wiadomo że bakterie te wytwarzają szereg substancji hamujących wzrost mikroflory owada, aczkolwiek dotąd nie stwierdzono występowania mechanizmów antagonistycznych skierowanych w przeciwną stronę. W ramach przeprowadzonych badań wyizolowano z jelita środkowego 60-ciu larw *A. solstitiale* 900 szczepów bakteryjnych. Następnie przy użyciu płytkowych testów inhibicji wzrostu wyselekcjonowano 16 izolatów wykazujących zdolności antagonistyczne przeciw symbiotycznym bakteriom nicieniowym. Stosując badania molekularne stwierdzono, że należą one do rodzajów *Bacillus*, *Chryseobacterium*, *Enterococcus* i *Serratia*. W celu ustalenia, czy zidentyfikowane szczepy bakteryjne są rozpowszechnione w populacji guniaka czerwczyka analizowano skład mikrobiomu jelita środkowego larw *A. solstitiale* stosując technikę sekwencjonowania nanoporowego genu 16S rRNA.

Badania finansowane z grantu NCN (OPUS11 2016/21/B/NZ9/01865) oraz wsparte Europejskim Funduszem Rozwoju Regionalnego (POPW.01.03.00-06-003/09-00)

Metagenomic analysis of the gut microflora of summer chafer (*Amphimallon solstitiale* L.) larvae for the interaction with entomopathogenic nematode symbiotic bacteria

Entomopathogenic nematodes from the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis*, which share symbiotic associations with bacteria from the genera *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*, are effective biocontrol agents against insect pests. It is known that these bacteria produce a number of substances that inhibit the growth of insect gut bacteria, however there have been no studies on antagonistic mechanisms that would work in the opposite direction. A total number of 900 bacterial strains were isolated from the midgut of 60 individual *A. solstitiale* larvae. Their antibacterial activity was determined using growth inhibition plate assays. 16 isolates showing antibacterial activity against entomopathogenic nematode symbiotic bacteria were identified as *Bacillus*, *Chryseobacterium*, *Enterococcus* and *Serratia* sp. by molecular methods. In order to determine whether identified bacterial strains are widespread in population of *A. solstitiale* we conducted a metagenomic analysis of the gut microflora of insect larvae using 16S rRNA gene nanopore sequencing.

This research was supported by NCN (OPUS11 016/21/B/NZ9/01865) and by EU from the European Regional Development Fund (POPW.01.03.00-06-003/09-00)



Metagenomika a jakość środowiska
(rolnictwo i analiza gleb)



Skuteczność lamp LED – biobójczych w zbiorniku wodnym aparatu medycznego

Maria J. Chmiel, Iwona Hryniewicz

Katedra Mikrobiologii, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja, al. A. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Badania miały na celu sprawdzenie skuteczności działania lampy LED biobójczej w zbiorniku wodnym aparatu przeznaczonego do normotermii pacjentów. Badania mikrobiologiczne obejmowały wstępne zanieczyszczenie zbiornika mikroorganizmami wskaźnikowymi z gatunku *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* oraz *Aspergillus Niger* (wszystkie z kolekcji ATCC) i późniejszy pomiar zawartości tych drobnoustrojów w wodzie w odstępach czasowych. Badania wykonano metodą filtracji membranowej

Zastosowana w urządzeniu lampa LED biobójcza w istotnym stopniu redukowała liczebność badanych mikroorganizmów – zarówno bakterii jak i grzybów.

Z uwagi na fakt, że większość próbek pobranych górną (wlewem wody do zbiornika) była znacznie bardziej zanieczyszczona niż próbki pobrane dołem (z kranu spustowego) – i to właśnie te wartości w głównej mierze decydowały o czasie redukcji skażenia – zalecono poprawę przepływu/mieszania wody lub założenie dodatkowej lampy u góry – co zdecydowanie powinno skrócić czas oczyszczania wody. Po założeniu dodatkowej lampy całkowity czas dekontaminacji skrócono do około siedmiu godzin – nawet przy bardzo wysokim zanieczyszczeniu mikrobiologicznym zbiornika.

Effectiveness of biocidal LED lamps in the water tank of the medical apparatus

Microbiological analyzes were performed to verify the effectiveness of the biocidal LED lamps in the water tank of the medical apparatus to normothermia of patients. Microbiological tests included pre-contamination of the water tank of the device with indicator microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Aspergillus niger* (all from the ATCC collection) and subsequent measurement of the microorganisms number in water at intervals. Analyzes were performed by membrane filtration method.

The biocidal LED lamp used in the device significantly reduced the number of tested microorganisms - both bacteria and fungi. Due to the fact that the majority of samples collected by the top (water infusion into the tank) was much more contaminated than the samples collected at the bottom (from the trigger tap) - and it was the main factor determining the time of contamination reduction – it is recommended to improve the flow/mixing of water or to install additional lamp on top of the tank - which should definitely reduce the time of water purification by the apparatus. After installing an additional lamp, the total decontamination time has been reduced to about seven hours - even with very high microbiological contamination of the tank.

Próba detekcji głównych grup eukariontów glebowych związanych z rozkładem celulozy z wykorzystaniem multiplex PCR i sekwencjonowania nowej generacji

Dominika Chmolewska¹, Mohammad Bahram^{2,3}

¹Institut Systematyki i Ewolucji Zwierząt PAN, ul. Sławkowska 17, 31-016 Kraków

²Wydział Ekologii, Szwedzki Uniwersytet Nauk o Rolniczych, Uppsala, Szwecja

³Institut Ekologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet w Tartu, Tartu, Estonia

Przeprowadzono doświadczenie laboratoryjne porównujące tempo dekompozycji celulozy w glebie pobranej z trzech łąk z ogrodu siedliskowego w Radzionkowie na Śląsku. Łąki te, w celu ochrony wartościowych biocenoz, przewieziono z terenu budowy w roku 2013. Stwierdzono, iż tempo dekompozycji nie różniło się statystycznie pomiędzy łąkami. Zaobserwowano jednak duże zróżnicowanie rozkładu w ramach danej łąki: od 0 do 100%. Aby porównać strukturę zespołów na nierozłożonych paskach celulozy oraz paskach rozłożonych wykonano pilotażowo multiplex PCR z wykorzystaniem 19 par primerów ITS3-ITS6 dla grzybów, protistów i mezo-fauny glebowej, a następnie sekwencjonowanie ekstraktów DNA pozyskanych z pasków celulozy o różnym stopniu dekompozycji. Pochodzenie z danej łąki determinowało podobieństwo zespołów w większym stopniu niż poziom dekompozycji celulozy. Duża zmienność rozkładu celulozy w ramach jednej łąki wskazuje na dużą heterogeniczność siedliska. Jakkolwiek duża zmienność struktury zespołów mikroorganizmów glebowych oraz ich funkcjonowania jest często opisywana w literaturze, w tym przypadku jest ona szczególnie duża, co może wynikać z tego, iż łąki w ogrodzie siedliskowym w Radzionkowie były przewiezione z terenu budowy w kawałkach, a przestrzenie pomiędzy kawałkami murawy uzupełniano glebą z niższych poziomów profilu glebowego.

Badania sfinansowane dzięki środkom DS Instytutu Systematyki i Ewolucji Zwierząt PAN (temat I.1.1) oraz stypendium EMBO

Pilot study on detection of major soil eukaryote groups linked to cellulose decomposition using multiplex PCR and next generation sequencing

Cellulose decomposition experiment was performed in laboratory conditions using soil from the three translocated meadows from the build-up area to the habitat garden. Multiplex PCR with 19 primer pairs characteristic for fungi, protists and meso-fauna followed by Illumina sequencing was performed on DNA extracts from six cellulose strips differing in decay stadium. The meadow grouped communities over the decomposition stadium. While the high spatial heterogeneity of microbial communities structure and functioning is well-know phenomena, in this case it can be additionally increased by fragmentation of translocated meadows for their transportation and filling the insets between translocated turf blocks with sub-soil.

Porównanie oddziaływania wybranych syntetycznych surfaktantów na aktywność fosfataz i dehydrogenaz w glebie zanieczyszczonej benzyną

Kornel Curyło, Arkadiusz Telesiński

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Celem podjętych badań było określenie wpływu dwóch syntetycznych surfaktantów: preparatu Triton X-100, siarczanu dodecynianu sodu – SDS na aktywność dehydrogenaz, fosfatazy zasadowej i fosfatazy kwaśnej w glebie (o składzie granulometrycznym piasku gliniastego i zawartości węgla organicznego $8,69 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), zanieczyszczonej benzyną w dawce $50 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. Wymienione surfaktanty wprowadzono do gleby w ilości 0, 50, 100 i $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. Próbkę inkubowano w temperaturze 20°C przez okres 56 dni. W odstępach tygodniowych oznaczano w nich spektrofotometrycznie aktywność enzymatyczną. W trakcie trwania całego doświadczenia wykazano negatywny wpływ benzyny na aktywność oznaczanych enzymów. Wprowadzenie surfaktantów wielokrotnie istotnie zmniejszyło oddziaływanie benzyny, zwłaszcza na aktywność dehydrogenaz. Trudno jednak jednoznacznie ocenić, który z testowanych surfaktantów wykazuje większą efektywność, gdyż zaobserwowany wpływ zmieniał się w trakcie trwania doświadczenia.

Comparison of the effect of selected synthetic surfactants on phosphatase and dehydrogenase activities in soil contaminated with petrol

The aim of the study was to determine the effect of two synthetic surfactants: Triton X-100 preparation, sodium dodecylsulfate - SDS on the activity of dehydrogenases, alkaline phosphatase and acid phosphatase in soil (with granulometric composition of loamy sand and organic carbon content of $8.69 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), contaminated with petrol in the dose of $50 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ dm. These surfactants were added into the soil in the amount of 0, 50, 100 and $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ dm. Samples were incubated at the temperature of 20°C for 56 days. At weekly intervals, enzymatic activity was spectrophotometrically determined. During the whole experiment, a negative influence of petrol on the activity of the enzymes was shown. Application of surfactants significantly decreased the influence of petrol, especially on the activity of dehydrogenases. However, it is difficult to unequivocally assess which of the tested surfactants is more effective, as the observed effect changed during the experiment.

Ocena oddziaływania flurbiprofenu na aktywność fosfatyz w glebie

Dorota Dunikowska, Arkadiusz Telesiński

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Flurbiprofen jest jednym z najczęściej stosowanych niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Jest on pochodną kwasu propionowego o działaniu przeciwzapalnym, przeciwbólowym i przeciwgorączkowym. Celem podjętych badań było określenie oddziaływania flurbiprofenu na aktywność wybranych fosfatyz: zasadowej i kwaśnej fosfomonoesterazy, fosfodiesterazy, fosfortriesterazy oraz pirofosfatyz nieorganicznej w piasku gliniastym o zawartości węgla 8,69 g·kg⁻¹. Do części ziemistych pobranego materiału glebowego wprowadzono flurbiprofen w następujących ilościach 0 (kontrola), 1, 10 oraz 100 mg·kg⁻¹ s.m.. W trakcie trwania doświadczenia próbki gleby inkubowano w 20°C, a ich wilgotność utrzymywano na poziomie 60% maksymalnej pojemności wodnej. We wszystkich kombinacjach oznaczono w 1., 15., 30. i 45. dniu doświadczenia aktywność wymienionych fosfatyz. Na podstawie otrzymanych wyników trudno jednoznacznie ocenić kierunek zmian aktywności fosfatyz glebowych pod wpływem flurbiprofenu. Zaobserwowany efekt zależał zarówno od dawki wprowadzonego leku, jak i dnia doświadczenia. Najbardziej wrażliwe na obecność w glebie flurbiprofenu okazały się fosfomonoesterazy. Interesującym jest również fakt, że wielkość oddziaływania leku wielokrotnie nie była związana z dawką wprowadzonego leku.

Assessment of flurbiprofen on phosphatase activities in soil

Flurbiprofen is one of the most commonly used non-steroidal anti-inflammatory drugs. It is a derivative of propionic acid with anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects. The aim of the study was to determine the effect of flurbiprofen on the activity of selected phosphatases: alkaline and acid phosphomonoesterase, phosphodiesterase, phosphotriesterase and inorganic pyrophosphatase in loamy sand with carbon content of 8.69 g·kg⁻¹. Flurbiprofen was added into the samples of the collected soil material in the following amounts 0 (control), 1, 10 and 100 mg·kg⁻¹ dm. During the experiment, soil samples were incubated at 20°C and their moisture content was maintained at the level of 60% of maximum water holding capacity. In all the combinations the activity of the phosphatases was determined on days: 1, 15, 30 and 45. On the basis of the obtained results it is difficult to unequivocally assess the direction of changes in soil phosphatase activity under the influence of flurbiprofen. The observed effect depended on both the dose of the added drug and the day of experiment. Phosphomonoesterases turned out to be the most sensitive to the presence of flurbiprofen in the soil. It is also interesting that the magnitude of the drug exposure was repeatedly not related to the dose of the added drug.

Wpływ biowęgla na zmianę bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikroorganizmów glebowych w uprawie zbóż

Anna Gałązka¹, Jarosław Grządziel¹, Karolina Gawryjołek¹, Jarosław Ciepiał¹, Krzysztof Jończyk²

¹Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl;

²Zakład Systemów i Ekonomiki Produkcji Roślinnej

Celem badania była ocena wpływu dodatku biowęgla na jakość gleby i różnorodność strukturalną i funkcjonalną drobnoustrojów. Dawki biowęgla określono na podstawie początkowej zawartości węgla w glebie i zwiększono je do 2,5%, 5%, 10%, 20%, 50% i 100% w obiektach doświadczalnych. Projekt eksperymentu obejmował również obiekt kontrolny, który nie był traktowany biowęgłem. Określono podstawowe aktywności biologiczne w glebie, tj. aktywność enzymatyczną i zawartość węgla i azotu w biomacie mikrobiologicznej. Dodatkowo oceniono strukturalną i funkcjonalną bioróżnorodność mikroorganizmów glebowych. Wykazano, że biowęgiel dodany do gleby w dawce 10-20% znacznie zwiększył aktywność biologiczną gleby i różnorodność funkcjonalną. 20% dawka biowęgla okazała się optymalną dawką dla zwiększenia aktywności biologicznej i bioróżnorodności gleby. Dawka 20% biowęgla spowodowała znaczny wzrost całkowitej zawartości węgla w biomacie drobnoustrojowej, aktywności enzymatycznej i ogólnej zawartości całkowitych i łatwo ekstrahowanych glomalin. Najwyższe wartości wskaźników Shannona i AWCD określono w glebie uzupełnionej 5-20% biowęgla.

Badania sfinansowano z tematu badawczego 3.13 Ocena oddziaływania biowęgla na produktywność roślin oraz właściwości fizyko-chemiczne i mikrobiologiczne”, realizowanego w ramach działalności statutowej IUNG-PIB (2016-2019).

The effect of biochar on the change of structural and functional biodiversity of soil microorganisms in cereal cultivation

The aim of the study was to evaluate the effect of biochar addition on soil quality and structural and functional diversity of microorganisms. Biochar doses were determined based on the initial carbon content in the soil and increased to 2.5%, 5%, 10%, 20%, 50% and 100% in experimental facilities. The design of the experiment also included a control object that was not treated with biochar. The basic biological activities in the soil were determined, i.e. the enzymatic activity and the carbon and nitrogen content in the microbiological biomass. In addition, it assessed the structural and functional biodiversity of soil microorganisms. It was shown that biochar added to soil at a dose of 10-20% significantly increased soil biological activity and functional diversity. A 20% dose of biochar turned out to be the optimal dose for increasing the biological activity and soil biodiversity. The 20% biocarbon dose resulted in a significant increase in the total carbon content in the microbial biomass, enzymatic activity and the total content of total and easily extracted glomalines. The highest values of Shannon and AWCD indicators were determined in soil supplemented with 5-20% biochar.

The research was financed from the research task 3.13. Assessment of biochar impact on plant productivity as well as physico-chemical and microbiological properties', carried out as part of IUNG-PIB statutory activity (2016-2019)

Bioróżnorodność strukturalna i funkcjonalna gleb w zależności od systemu uprawy pszenicy ozimej

Anna Gałązka¹, Jarosław Grządziel¹, Karolina Gawryjolek¹, Krzysztof Jończyk²

¹Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl;

²Zakład Systemów i Ekonomiki Produkcji Roślinnej

Celem badań była ocena bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej gleb spod uprawy pszenicy ozimej w zależności od systemu uprawy roli. Próbkę glebową pobrano w kwietniu i sierpniu 2018 roku spod uprawy pszenicy ozimej uprawianej z zastosowaniem różnych systemów produkcji roślinnej (monokultura, konwencjonalny, ekologiczny, integrowany) w Osinach z modelowego doświadczenia polowego założonego w 1994 roku. Próbkę glebową przeanalizowano w aspekcie bioróżnorodności i aktywności mikrobiologicznej gleb. Stwierdzono, iż uprawa pszenicy jarej w monokulturze i systemie konwencjonalnym istotnie wpływa na spadek w glebie aktywności mikrobiologicznej i bioróżnorodności. Z kolei uprawa roślin w systemie ekologicznym i integrowanym powoduje zachowanie bioróżnorodności mikrobiologicznej gleb.

Badania sfinansowano z tematu badawczego 1.20, realizowanego w ramach działalności statutowej IUNG-PIB (2016-2019).

Structural and functional biodiversity of soils depending on the winter wheat cultivation system

The aim of the study was to assess the structural and functional biodiversity of soil from the cultivation of winter wheat depending on the cultivation system. Soil samples were collected in April and August 2018 from the cultivation of winter wheat cultivated using various plant production systems (monoculture, conventional, ecological, integrated) in Osiny from the model field experiment established in 1994. Soil samples were analyzed in the aspect of structural and functional biodiversity and microbial activity. It was found that the cultivation of spring wheat in monoculture and the conventional system significantly influences the decrease in microbial activity and biodiversity in the soil. In turn, cultivation of plants in an ecological and integrated system results in the preservation of microbial biodiversity of soils.

The research was financed from the research task 1.20, carried out as part of IUNG-PIB statutory activity (2016-2019).

Zdolności adaptacyjne mikrosymbiontów koniczyny łąkowej do warunków glebowych

Marta Koziel¹, Paulina Lipa¹, Aleksander Klepka¹, Teresa Urbanik-Sypniewska¹, Monika Janczarek¹

¹Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Biologiczne wiązanie azotu przez bakterie symbiotyczne zwane ogólnie ryzobiami jest procesem, który promuje wzrost roślin w warunkach niedoboru azotu w glebie. Bakterie te zasiedlają korzenie roślin motylkowatych i indukują tworzenie specjalnych struktur zwanych brodawkami, wewnątrz których zachodzi proces redukcji azotu atmosferycznego. Koniczyna łąkowa należy do roślin motylkowatych odgrywających ważną rolę w rolnictwie, jak również w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym.

Przeprowadzone badania miały na celu określenie zdolności adaptacyjnych mikrosymbiontów koniczyny łąkowej rosnącej w regionie Lubelszczyzny do niekorzystnych warunków panujących w glebie, jak np. niskie pH. Do analiz wybrano dziesięć szczepów wyizolowanych z brodawek korzeniowych koniczyny. Badano kinetykę wzrostu bakterii w pożywce o różnym pH (6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0). Wykazano, że szczepy te różniły się pod względem intensywności wzrostu w tych warunkach oraz optymalnego pH. Ponadto, badane szczepy wykazywały znaczące różnice w wydajności tworzenia biofilmu oraz autoagregacji komórek, co ma istotne znaczenie dla przeżycia tych bakterii w glebie.

Adaptation ability of red clover microsymbionts to soil conditions

Biological nitrogen fixation conducted by symbiotic bacteria, commonly called rhizobia, is a process that promotes plant growth under nitrogen limitation conditions in soil. These bacteria infect legume roots and induce formation of special structures named nodules, inside which reduction of atmospheric nitrogen occurs. Red clover belongs to legumes, which play an important role in agriculture as well as in food and pharmaceutical industries.

The goal of the experiments was to determine the adaptation ability of microsymbionts of red clover plants growing in the Lublin region to detrimental conditions in soil, such as low pH. Ten strains isolated from clover root nodules were chosen for the analyses. Growth kinetics of bacteria in media with different pH (6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0) was tested. It was indicated that these strains differed in terms of the intensity of growth in these conditions and an optimal pH value. Moreover, they showed significant differences in the efficiency of biofilm formation and cell aggregation, which is important for survival of these bacteria in soil.

Występowanie genów lekooporności i przeżywalność bakterii w sztucznym śniegu w wybranych stacjach narciarskich

Anna Lenart-Boroń

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

Badania przeżywalności bakterii w sztucznym śniegu i występowania genów lekooporności przeprowadzono w pięciu stacjach narciarskich. Metodą filtracji membranowej zbadano liczebność bakterii grupy coli, *Escherichia coli* i *Enterococcus faecalis* w wodzie wykorzystywanej do śnieżenia i w świeżo wytworzonym sztucznym śniegu, a techniką seryjnych rozcieńczeń - liczbę bakterii mezo- i psychrofilnych oraz gronkowców. Technika PCR oznaczono występowanie genów beta-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) w DNA wyizolowanym z bakterii oraz bezpośrednio z filtrów, przez które przesączono wodę z wytopionego śniegu: *blaCTX-M*, *blaOXA*, *blaSHV* i *blaTEM*. W wodzie przeznaczony do śnieżenia liczba bakterii grupy coli wahała się od 0 do 900 jtk/100 ml, liczba *E. coli* – od 0 do 800 jtk/100 ml, *E. faecalis* od 0 do 400 jtk/100 ml, a w wodzie wytopionej ze sztucznego śniegu: bakterii grupy coli: od 0 do 900 jtk/100 ml, *E. coli*: 0-830 jtk/100 ml, *E. faecalis*: 0-140 jtk/100 ml, wskazując na znaczne zanieczyszczenie sztucznego śniegu i znaczną przeżywalność bakterii. Geny *blaTEM* (48.7%), *CTX-M* (64.1%) i *SHV* (30.8%) stwierdzono niemal jedynie w izolatach *E. coli* pozyskanych ze sztucznego śniegu. W DNA bezpośrednio wyizolowanym z filtrów, pomimo pozytywnej weryfikacji 16S rDNA, nie wykazano obecności genów ESBL.

Badania sfinansowane w ramach projektu MINIATURA Nr 2018/02/X/NZ9/00867

The occurrence of antimicrobial resistance genes and survival of bacteria in artificial snow in the selected ski stations

Research on the survival of bacteria in artificial snow and the occurrence of antimicrobial resistance genes was carried out at five ski stations. Membrane filtration was used to assess the number of coliforms, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* in water used for artificial snowing and in freshly produced snow, while serial dilutions method was used to enumerate meso- and psychrophilic bacteria and staphylococci. PCR was employed to determine the presence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) genes in DNA extracted from bacteria and directly from filters through which snowmelt water was filtered: *blaCTX-M*, *blaOXA*, *blaSHV* and *blaTEM*. In water used for artificial snowing, the number of coliforms ranged from 0 to 900 CFU/100 ml, *E. coli* – from 0 to 800 CFU/100 ml, *E. faecalis* from 0 to 400 CFU/100 ml, and in snowmelt water: coliforms: 0-900 CFU/100 ml, *E. coli*: 0-830 CFU/100 ml, *E. faecalis*: 0-140 CFU/100 ml, indicating significant contamination of artificial snow and bacterial survival. The *blaTEM* (48.7%), *CTX-M* (64.1%) and *SHV* (30.8%) genes were found only in *E. coli* isolates obtained from the artificial snow. In the DNA extracted directly from filters, despite positive verification of 16S rDNA, no ESBL genes were found.

*This research was financed within the MINIATURA project
No. 2018/02/X/NZ9/00867*

Wpływ czynników środowiskowych na wzrost i przeżywalność szczepu dzikiego *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* i mutantów defektywnych w syntezie EPS

Paulina Lipa¹, Marta Kozieł¹, Aleksandra Sumorek¹, Teresa Urbanik-Sypniewska¹, Monika Janczarek¹

¹ Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Rhizobium leguminosarum bv. *trifolii* jest Gram-ujemną bakterią glebową, która może występować w postaci wolno żyjących komórek lub w symbiozie z koniczyną, indukując tworzenie specyficznych struktur, zwanych brodawkami korzeniowymi. We wczesnych etapach symbiozy ważną funkcję pełni bakteryjny egzopolisacharyd (EPS). Synteza EPS jest procesem wieloetapowym, w którym istotną rolę pełnią białka: PssA o funkcji glukozylotransferazy i pozytywny regulator RosR. W badaniach wykorzystano szczep dziki *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Rt24.2 oraz jego pochodne Rt5819 i Rt2472 zawierające mutacje w genach *pssA* oraz *rosR* i defektywne w syntezie EPS. Zbadano wpływ różnych czynników środowiskowych (temperatury, stężenia NaCl, pH i flawonoidów: chryzyny i naryngeniny) na wzrost i przeżywalność tych szczepów. Wykazano, że szczepy defektywne w syntezie EPS charakteryzowały się niższą przeżywalnością oraz wolniejszym wzrostem w testowanych warunkach w porównaniu do szczepu kontrolnego. Mutanty niezdolne do syntezy EPS były mniej odporne na działanie takich czynników, jak: zasolenie, niskie pH oraz flawonoidy. Uzyskane wyniki potwierdziły, że EPS odgrywa istotną rolę w przystosowaniu się bakterii *R. leguminosarum* bv. *trifolii* do niekorzystnych warunków glebowych.

The influence of environmental factors on the growth and survival of wild-type *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* and its mutant strains defective in EPS synthesis

Rhizobium leguminosarum bv. *trifolii* is a Gram-negative bacterium, which can exist as free-living cells or in symbiosis with clover, inducing formation of specific structures called root nodules. During early stages of symbiosis, bacterial extracellular polysaccharide (EPS) plays an important role. EPS synthesis is a multi-step process, in which proteins PssA of a glucosyltransferase function and a positive regulator RosR play essential roles. In our study, a wild-type *R. leguminosarum* bv. *trifolii* strain Rt24.2 and its derivatives Rt5819 and Rt2472 harboring mutations in *pssA* and *rosR* genes and defective in EPS synthesis were used. The influence of various environmental factors (temperature, NaCl concentration, pH, and flavonoids: chrysin and naryngenin) on the growth and survival of these strains was tested. It was demonstrated that the EPS-deficient strains were characterized by lower viability and slower growth under the tested conditions in comparison to the control strain. Mutants unable to synthesize EPS were less resistant to the action of such factors as salinity, low pH, and flavonoids. The results confirm that EPS plays an essential role in adaptation of *R. leguminosarum* bv. *trifolii* to detrimental soil conditions.

Tolerancja stresu kadmowego oraz tworzenie biofilmu przez szczepy bakteryjne wyizolowane z gleb Spitsbergenu

Małgorzata Majewska¹, Ulyana Kozhak¹, Gabriela Kowela¹, Agnieszka Hanaka²

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Biologii i Biotechnologii

¹Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii, Zakład Mikrobiologii Środowiskowej

²Instytut Biologii i Biochemii, Zakład Fizjologii Roślin

Szczepy *Pseudomonas putida* (Pp2 i Pp53), *Pseudomonas luteola* (Pl29 i Pl84), *Pseudomonas fluorescens* (Pf25), *Burkholderia cepacia* (Bc1, Bc18 i Bc58), *Serratia liquefaciens* (Sl85 i Sl86), *Stenotrophomonas maltophilia* (Sm54), *Ochrobactrum anthropi* (Oa55), *Achromobacter denitrificans* (Ad87) oraz *Pantoea* spp. (P24) zostały wyizolowane z powierzchniowych warstw (< 15cm) gleb Wedel Jarlsberg Land (Spitsbergen, Svalbard). Testowane szczepy charakteryzowały się względnym oligotrofizmem oraz tolerancją na różne stężenia Cd w podłożu (od 5 do 250 mg l⁻¹). Poziom tolerancji Cd zależał od szczepu oraz od zasobności podłoża w związku odżywcze. Bakterie hodowane na podłożu minimalnym (MBS) tolerowały o 20-60% niższe stężenia tego metalu niż szczepy rosnące na podłożu odżywczym (bulion). Siła tworzenia biofilmu podczas hodowli bakterii na bulionie oraz jej zmienność między szczepami była wyższa średnio o 40% niż podczas hodowli na podłożu MBS. Najobfitszy biofilm był tworzony przez szczepy: Pf25 > Pl84 > Oa55 > Bc18. Stwierdzono, że kadm dodany do bulionu stymulował szczepy Bc1, Pp2, Bc18, Pl29, Pp53, Oa55, Bc58 do tworzenia biofilmu, natomiast szczepy Pf25, Sm54, Pl84 Sl 85Sl 86Ad87 utraciły tę zdolność w jego obecności.

Tolerance to cadmium stress and biofilm formation by bacterial strains isolated from Spitsbergen soils

Strains *Pseudomonas putida* (Pp2 and Pp53), *Pseudomonas luteola* (Pl29 and Pl84), *Pseudomonas fluorescens* (Pf25), *Burkholderia cepacia* (Bc1, Bc18 and Bc58), *Serratia liquefaciens* (Sl85 and Sl86), *Stenotrophomonas maltophilia* (Sm54), *Ochrobactrum anthropi* (Oa55), *Achromobacter denitrificans* (Ad87) and *Pantoea* spp. (P24) were isolated from surface layers of soils (<15 cm) located in the region of Wedel Jarlsberg Land (Spitsbergen, Svalbard). Bacterial isolates have been classified as facultative oligotrophs with the different tolerance to Cd stress (from 5 to 250 mg Cd l⁻¹ of growth medium). The level of Cd tolerance was depended on the strain of bacteria and the nutrient content in the medium. Bacteria growing in the minimal broth solution (MBS) tolerated significantly lower (from 20 to 60%) concentrations of Cd than the same strains growing in the nutrient broth. The production of the biofilm by bacterial cells in nutrient broth as well as the differentiation of capability to formation of biofilm between these isolates were stronger on average by 40% than in MBS. Moreover, the strongest biofilm was created by the strains: Pf25 > Pl84 > Oa55 > Bc18. It was found that the Cd stress increased the ability of Bc1, Pp2, Bc18, Pl29, Pp53, Oa55, Bc58 to biofilm formation, whereas the strains Pf25, Sm54, Pl84, Sl85, Sl86, Ad87 lost this ability.

Relacje między szczepami bakteryjnymi jako istotny czynnik w konstruowaniu konsorcjum stymulującego wzrost roślin w warunkach stresu kadmowego

Małgorzata Majewska¹, Paweł Kwiatkowski¹, Agnieszka Hanaka²

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Biologii i Biotechnologii

¹Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, ²Zakład Fizjologii Roślin

Celem badań jest opracowanie biopreparatu o szerokim zakresie tolerancji temperatury stymulującego wzrost i rozwój roślin w środowisku skażonym kadmem. Z pośród bakterii wyizolowanych z gleb rejonu Wedel Jarlsberg Land (Spitsbergen) wybrano 19 szczepów należących do rodzaju *Pseudomonas*: *P. fluorescens* (Pf25), *P. putida* (Pp2 Pp49 i Pp53) oraz *P. luteola* (P111, P117, P120, P123, P127, P129, P131, P143 P144, P146, P153, P167, P79, P180, P184) tolerujących 25-200 $\mu\text{g Cd} \cdot \text{ml}^{-1}$ podłoża oraz rosnących i produkujących siderofory w zakresie temperatur od 6 do 36°C (3-dniowy test na podłożu błękitnym). Testowane szczepy z wyjątkiem Pp49 i Pp53, rozpuszczały fosforan trójwapniowy obecny w podłożu PN w 28°C i 36°C (7-dniowa inkubacja). Uruchamianie fosforu w 14°C stwierdzono u 11 szczepów (Pp2, P111, P117, P120, P123, Pf25, P144, P167, P79, P180, P184) a w 4°C tylko u Pp2 i Pf25. Wszystkie izolaty hamowały wzrost Pp2 na agarze odżywczym, natomiast Pf25 hamował wzrost pozostałych izolatów (testy krążkowe). Zaobserwowano, że wzrost zarówno Pf25 jak i Pp49 był hamowany przez 9 szczepów należących do gatunku *P. luteola*. Stwierdzono, że Cd-oporne szczepy P167, P179, P180, P184 były neutralne względem siebie oraz najefektywniej spośród wszystkich mobilizowały Fe i P w zakresie od 14°C do 36°C, a zatem posiadają potencjał stymulujący wzrost roślin w środowisku skażonym Cd.

Relations between bacterial strains as an important factor in creating a consortium stimulating plant growth under cadmium stress conditions

The aim of the study is to prepare a bacterial biopreparate with a wide range tolerance on temperature to stimulate growth and development of plants in Cd-contaminated soils. Among the bacteria isolated from soils of the Wedel Jarlsberg Land (Spitsbergen, Svalbard), 19 strains belonging to the genus *Pseudomonas* were selected: *P. fluorescens* (Pf25), *P. putida* (Pp2 Pp49 and Pp53) and *P. luteola* (P111, P117, P120, P123, P127, P129, P131, P143, P144, P146, P153, P167, P79, P180, P184). These strains tolerated Cd introduced to the broth medium (25 to 200 $\mu\text{g Cd} \cdot \text{ml}^{-1}$), and produced siderophores in the range from 6 to 36°C (3-day test on blue medium). All tested isolates, with the exception of Pp49 and Pp53, were able to solubilize insoluble phosphorus present in the PN medium at 28°C and 36°C (7-day incubation). Mobilization of P at 14°C was observed among 11 strains of *Pseudomonas* (Pp2, P111, P117, P120, P123, Pf25, P144, P167, P79, P180, P184), and at 4°C by Pp2 and Pf25. All isolates inhibited the growth of Pp2 on the nutrient agar plates, while Pf25 inhibited the growth of the remaining isolates (agar disc method). It was observed that the growth of both Pf25 and Pp49 was inhibited by 9 strains of *P. luteola*. Out of all Cd-resistance strains, P167, P179, P180, P184 were neutral to each other and they the most efficiently mobilized Fe and P in the range of 14-36°C. Hence they can be recognized as having the potential to stimulate growth of plants in the Cd-contaminated environment.

Zdolność wiązania kationów metali ciężkich (Cd, Zn, Pb) przez EPS szczepów: *Fusarium*, *Trichoderma* i *Penicillium* określana metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA)

Artur Nowak¹, Jolanta Jaroszuk-Ścisel¹, Anna Jarosz-Wilkolazka²,
Monika Osieńska-Jaroszuk², Marzena Geça³, Dorota Kołodyńska³

¹Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, ²Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii,

³Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii, UMCS, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Zdolność do wiązania jonów metali przez egzopolimery zewnątrzkomórkowe (EPS), jest bardzo ważną środowiskową cechą adaptacyjną. EPS mogą stanowić rezerwuár mikro- i makroelementów (Fe, Ca, Mg), jak i stanowić barierę w glebach skażonych metalami ciężkimi (Cd, Zn, Pb). Wiązanie metali ciężkich przez EPS jest kluczowe dla procesu bioremediacji środowisk skażonych. EPS otrzymano metodą precypitacji alkoholowej (etanol 1:1) z płynów pochodzących z 12 szczepów Ascomycota reprezentujących odrębne gatunki: sześciu *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, trzech *Trichoderma*: *T. harzianum*, *T. koningiopsis*, *T. reesei* i trzech *Penicillium*: *P. simplicissimum*, *P. paneum*, *P. commune*. Liofilizaty EPS wytrząsano w mieszaninie jonów Cd, Zn, Pb (30 mg/L) przez okres 24 i 48 godzin, a następnie analizowano na ASA. Najwyższą zdolność sorpcyjną jonów Pb (na poziomie 70-75%) wykazano po 24-godzinnej inkubacji dla EPS szczepu *F. culmorum* i *P. commune* a dla jonów Zn wiązanych przez *F. culmorum* na poziomie 65-80%. Jedynie EPS szczepów *F. avenaceum*, *F. oxysporum* i *F. graminearum* po 24-godzinnej inkubacji wiązały tylko 50% jonów Zn, Pb i Cd. Obserwowano znaczny spadek sorpcji Zn i Pb po 48-godzinnej inkubacji. Jedynie jony Cd były wiązane na poziomie 70-90%.

Grant dla młodych naukowców BS-M-11-010-18-2-10

Percentage of binding of heavy metal cations (Cd, Zn, Pb) by EPS of *Fusarium*, *Trichoderma* and *Penicillium* strains as determined by atomic absorption spectrometry (ASA)

The ability to bind metal ions by extracellular exopolymers (EPS) is a very important environmental adaptive feature. EPS can be a reservoir of micro- and macroelectites (Fe, Ca, Mg) as well as a protective barrier in soils contaminated with heavy metals (Cd, Zn, Pb). The ability to bind heavy metals by EPS is very important in the bioremediation of contaminated environments. EPS obtained by alcohol precipitation (ethanol 1:1) from post-culture fluids of 12 Ascomycota strains representing separate species: six *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, three *Trichoderma*: *T. harzianum*, *T. koningiopsis*, *T. reesei* and three *Penicillium*: *P. simplicissimum*, *P. paneum*, *P. commune*. The EPS lyophilisates were shaken in a mixture of Cd, Zn, Pb (30 mg/L) ions for 24 and 48 hours, and then analyzed on ASA. The highest sorptive capacity of Pb ions (at the level of 70-75%) was demonstrated after 24 hours incubation for EPS of the strains *F. culmorum* and *P. commune* and for Zn ions bound by *F. culmorum* at the level of 65-80%. Only EPS of the *F. avenaceum*, *F. oxysporum* and *F. graminearum* strains after 24 hours incubation bound only 50% of Zn, Pb and Cd ions. A significant decrease in Zn and Pb sorption was observed after 48 hours of incubation. Only Cd ions were bound at 70-90%.

Skład taksonomiczny zbiorowisk bakterii zasiedlających organiczną warstwę gleby pod rdestowcem ostrokończystym (*Reynoutria japonica*)

Karolina Oszust¹, Magdalena Frąc¹, Anna M. Stefanowicz²

¹Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, koszust@ipan.lublin.pl, m.frac@ipan.lublin.pl, ²Instytut Botaniki im. Władysława Szafera, ul. Lubicz 46, 31-512 Kraków, a.stefanowicz@botany.pl

Rdestowiec ostrokończysty, syn. rdestowiec japoński (*Reynoutria japonica*) to roślina pochodząca z południowej Azji. Do Europy został sprowadzony w XIX wieku, jako roślina ozdobna. Ze względu na silne rozprzestrzenienie rdestowiec japoński jest współcześnie uznawany za gatunek inwazyjny. W okresie jesiennym olbrzymie ilości zaschłych pędów rdestowca opadają do gleby, co ma istotny wpływ na miąższość i chemiczną jakość organicznej warstwy gleby, oraz potencjalnie, na skład taksonomiczny zbiorowisk bakterii zasiedlających tę warstwę. Próby poziomu organicznego gleby pobrano jesienią 2017 roku, z 5 płatów *R. japonica* (>90% pokrycia) zlokalizowanych na odłogach i obszarach nadrzecznych. Przeprowadzono sekwencjonowanie następnej generacji (NGS) w technologii Illumina® z wykorzystaniem genu kodującego 16S rRNA jako markera taksonomicznego. We wszystkich badanych siedliskach odnotowano obecność licznych operacyjnych jednostek taksonomicznych (OTUs) reprezentujących następujące rodziny: Sinobacteraceae, Rhodospirillaceae, Rhodoplanes, Bradyrhizobiaceae, Pirellulaceae, Chitinophagaceae, Nocardiodaceae, Mycobacteriaceae, Micromonosporaceae, Salinibacterium, Cellulomonadaceae (przede wszystkim *Cellulomonas xylanilytica*) oraz rzędów Myxococcales, Streptophyta, Solirubrobacteriales.

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

Taxonomic composition of bacterial communities inhabiting soil organic layer under Japanese knotweed (*Reynoutria japonica*)

Japanese knotweed (*Reynoutria japonica*) is a native plant of the southern Asia. It was brought to Europe in the 19th century as a decorative plant, however now is considered as an invasive species. In the autumn, huge amounts of dried shoots of knotweed falls down into the soil, which has a significant impact on thickness and chemical quality its organic soil level, and taxonomic composition of their bacterial communities. Soil samples were taken in autumn 2017, from 5 *R. japonica* patches (>90% coverage) located on fallow and primary riverside areas. The next-generation sequencing (NGS) in Illumina® technology, using the 16S rRNA gene as a taxonomic marker, was performed. The following families were noted: Sinobacteraceae, Rhodospirillaceae, Rhodoplanes, Bradyrhizobiaceae, Pirellulaceae, Chitinophagaceae, Nocardiodaceae, Mycobacteriaceae, Micromonosporaceae, Salinibacterium, Cellulomonadaceae (primarily *Cellulomonas xylanilytica*) and Myxococcales, Streptophyta, Solirubrobakterie.

*This research was supported by National Science Centre (Poland),
project No.: DEC-2016/23/B/NZ8/00564.*

Ocena aktywności enzymatycznej i metabolicznej gleb spod roślin spontanicznie zasiedlających składowiska odpadów poflotacyjnych i żużlowych

Sylwia Siebielec¹, Emilia Grzęda¹, Monika Pecio², Anna Gałązka¹,
Grzegorz Siebielec²

⁽¹⁾ Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

⁽²⁾ Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

Składowiska odpadów poflotacyjnych 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. Celem pracy była ocena aktywności enzymatycznej i metabolicznej gleb spod roślin spontanicznie zasiedlających składowisko poflotacyjnych odpadów poflotacyjnych. Z ryzosfery pobrano próbki z 8 roślin w celu zmierzenia parametrów chemicznych i biochemicznych, które charakteryzują biodostępność metali, a także aktywność mikroorganizmów. Profile biochemiczne na poziomie społeczności mikroorganizmów oceniono za pomocą metody Biolog EcoPlate™. Różnice aktywności enzymatycznej i metabolicznej pomiędzy ryzosferą poszczególnych roślin wskazują na specyfikę składu populacji mikroorganizmów.

Praca finansowana w ramach projektu pt. „Rola mikroorganizmów w zasiedlaniu składowisk odpadów poflotacyjnych przez rośliny oraz ich wpływ na biodostępność pierwiastków śladowych. Preludium 9, UMO-2015/17/N/ST10/03182.

Enzyme and metabolic activity of soils collected from rhizosphere of spontaneous vegetation covering smelter wastelands

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 aim of the study was to evaluate the enzymatic and metabolic activity of soils from plants spontaneously inhabiting the wasteland in Piekary Śląskie. Rhizosphere soils representing 8 plants were sampled for measuring chemical and biochemical parameters which are indicative for metals bioavailability as well as for microorganism activity. The community-level biochemical profiles of microorganisms were evaluated by using the Biolog EcoPlate™ method. Differences in enzymatic and metabolic activity between plants indicate the specificity of the composition of the microorganism populations.

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

Wpływ suszy i intensywnych zmian wilgotności gleb na aktywność metaboliczną oraz skład populacji bakterii

Sylwia Siebielec¹, Emilia Grzęda¹, Jarosław Grzędziel¹, Anna Gałązka¹,
Grzegorz Siebielec²

⁽¹⁾ Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

⁽²⁾ Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu ekstremalnych zjawisk pogodowych, tj. długotrwałej suszy i intensywnych zmian wilgotności gleby na wybrane właściwości chemiczne i mikrobiologiczne gleby.

Badania przeprowadzono latem 2016 r. Ustalając różną częstotliwość i poziom nawadniania gleby, stworzono różne poziomy warunków stresowych. Wilgotność gleby rejestrowano w całym okresie trwania doświadczenia wazonowego, a próbki gleby pobierano kilka razy, aby reprezentowały okresy zarówno długotrwałej suszy, jak i nadmiernej wilgoci. Próbki gleby poddano oznaczeniu aktywności dehydrogenaz, fosfatazy kwaśnej i fosfatazy alkalicznej. Profile biochemiczne na poziomie społeczności drobnoustrojów oceniono za pomocą metody Biolog EcoPlate™.

Praca finansowana ze środków przyznanych przez IUNG-PIB na prowadzenie badań naukowych służących rozwojowi młodych naukowców – temat "Zmiany różnorodności i funkcjonalności drobnoustrojów w warunkach suszy i intensywnych zmian wilgotności gleby oraz ich konsekwencje dla emisji gazów cieplarnianych" oraz ze środków pochodzących z tematu statutowego 2.41. „Ocena skutków środowiskowych wykorzystania egzogennych źródeł materii organicznej w rolnictwie” IUNG-PIB.

Effect of drought and intense changes of soil moisture on metabolic activity and the composition of bacterial populations

The aim of the research was to assess the impact of extreme weather phenomena, i.e. long-term drought and intense changes of soil moisture on selected chemical and microbiological properties of the soil.

The research was carried out in summer 2016. Setting a various frequency and level of soil irrigation, various levels of stress conditions were created. Soil moisture was recorded throughout the entire pot experiment and soil samples were collected several times to represent periods of both long-term drought as well as excessive moisture. Soil samples were subjected to the determination of dehydrogenases activity, acid phosphatase and alkaline phosphatase. Biochemical profiles at the microbial community level were assessed using the Biolog EcoPlate™ method.

The research was performed within the young scientists project "Changes of diversity and functionality of microorganisms in drought conditions and intensive changes of soil moisture and their consequences for greenhouse gas emissions", granted by Institute of Soil Science and Plant Cultivation - State Research Institute and within statutory task 2.41 "Assessment of environmental effects of the use of exogenous organic matter sources in agriculture"

Ocena możliwości wykorzystania zmian aktywności fosfataz glebowych jako indykatora oddziaływania wybranych cieczy jonowych na środowisko glebowe

Arkadiusz Telesiński¹, Robert Biczak², Barbara Pawłowska²

¹Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ²Katedra Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii, Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Długosza w Częstochowie

Celem podjętych badań było określenie oddziaływania dwóch cieczy jonowych: chlorku 1-etylo-3-metyloimidazoliowego [EMIM][Cl] i chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego [BMIM][Cl] na aktywność fosfomonoestazy zasadowej (EC 3.1.3.1), fosfomonoestazy kwaśnej (EC 3.1.3.2), fosfotriestazy (EC 3.1.5.1) oraz pirofosfatazy nieorganicznej (EC 3.1.6.1) w glebie. Doświadczenie przeprowadzono na próbkach piasku gliniastego o zawartości węgla organicznego 8,5 g·kg⁻¹. Doniczki o średnicy 90 mm, napełniono glebą kontrolną lub glebą z dodatkiem badanych związków. Ciecze jonowe zastosowano w stężeniach 10, 50, 400 i 700 mg·kg⁻¹ s.m. Do tak przygotowanych wazonów wysiano po 20 ziarniaków jęczmienia jarego. Analizy aktywności enzymatycznej wykonano w 1., 7., 14. i 21. dniu doświadczenia. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że wprowadzenie testowanych związków spowodowało istotną inhibicję aktywności oznaczanych enzymów, zwiększającą się wraz ze wzrostem stężenia ksenobiotyków. [BMIM][Cl] odznaczał się większą toksycznością w stosunku do fosfataz niż [EMIM][Cl]. Natomiast spośród oznaczanych enzymów najbardziej wrażliwe na obecność w glebie cieczy jonowych okazały się fosfomonoestazy.

Assessment of the possibility of using the changes in the activity of soil phosphatases as an indicator of selected ionic liquid effects on the soil environment

The aim of the study was to determine the effect of two ionic liquids: 1-ethyl-3-methylimidazolium chloride [EMIM][Cl] and 1-butyl-3-methylimidazolium chloride [BMIM][Cl] on the activity of alkaline phosphomonoesterase (EC 3.1.3.1), acid phosphomonoesterase (EC 3.1.3.2), phosphotriesterase (EC 3.1.5.1) and inorganic pyrophosphatase (EC 3.1.6.1) in soil. The experiment was carried out on clay sand samples with organic carbon content of 8.5 g·kg⁻¹. 90 mm diameter pots were filled with control soil or soil with the addition of the tested compounds. Ionic liquids were applied at concentrations of 10, 50, 400 and 700 mg·kg⁻¹ d.m. The vases were prepared in such a way that 20 spring barley grains were sown into each pot. The enzymatic activity analyses were performed on the day 1, 7, 14, and 28. On the basis of the obtained results it was found that the application of the tested compounds resulted in a significant inhibition of the activity of the determined enzymes, which increased with the increase in the concentration of xenobiotics. [BMIM][Cl] was more toxic to phosphatases than [EMIM][Cl]. However, among the enzymes tested, phosphomonoesterases turned out to be the most sensitive to soil presence of ionic liquids.



Materiały Informacyjne
Sponsorów





EURx Sp. z o. o.

EURx Sp. z o. o. jest 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, zestawy do PCR i QPCR, odczynniki do elektroforezy takie jak wzorce wielkości DNA i białek, agarozы, barwniki obciążające, bufony oraz odczynniki do hodowli i różnego typu nukleazy, białka modyfikujące DNA, enzymy restrykcyjne i wiele innych odczynników niezbędnych w biologii molekularnej. 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.

EURx Sp. z o. o.

80-297 Gdańsk,

ul. Przyrodników 3

Polska

tel.(48 58) 524 06 97

fax (48 58) 341 74 23

www.eurx.com.pl

sales@eurx.com.pl

NIP 957-07-05-191



Genomed S.A.
ul. Ponczowa 12, 02-971 Warszawa
Tel. 22 644 60 19, 22 498 2 498, fax. 22 644 60 25
info@genomed.pl, www.genomed.pl

Genomed S.A. oferuje wszelkie typy analizy sekwencji DNA, w tym analizę polimorfizmu ("Gene Scan"), sekwencjonowanie materiału genetycznego w technologii Sangera i NGS (ang. Next-Generation Sequencing), syntezę oligonuklotydów standardowych (wysalanych i oczyszczanych HPLC), oligonukleotdów modyfikowanych oraz znakowanych podwójnie sond.

Technologia sekwencjonowania NGS (ang. Next-Generation Sequencing) stała się uniwersalnym i niezastąpionym narzędziem biologii molekularnej, dając niemal nieograniczony wgląd w informację genetyczną, w postaci genomów, transkryptomów czy epigenomów dowolnych organizmów. Dzięki dopasowaniu do potrzeb projektu, NGS znajduje zastosowanie w wielu dziedzinach naukowych, od diagnostyki medycznej począwszy na biologii ewolucyjnej i rolnictwie kończąc.

Przykładowe zastosowania sekwencjonowania NGS:

- sekwencjonowanie de novo całych genomów prokariotycznych i eukariotycznych,
- sekwencjonowanie eksomów,
- reseqwencjonowanie wybranych fragmentów genomów i amplikonów,
- sekwencjonowanie transkryptomów,
- sekwencjonowanie i analiza metagenomów, na podstawie fragmentu 16S RNA (skład bakteryjny) oraz sekwencji ITS (populacja grzybów) z puli DNA środowiskowego oraz pełnych metagenomów.

Genomed S.A. oferuje kompleksowe usługi sekwencjonowania genomowego, od przygotowania bibliotek po analizę bioinformatyczną (np. połączenie kontigów w konsensus, anotacja, analiza jakościowa i ilościowa składu gatunkowego, drzewa filogenetyczne itd.).

Zapraszamy do kontaktu w celu pomocy przy projektowaniu eksperymentów lub w przypadku pytań. Adres email na który można kierować pytania na temat NGS: ngs@genomed.pl.



Sartorius Poland Sp. z o. o.

Sartorius jest jednym ze światowych liderów w zakresie dostaw urządzeń laboratoryjnych i technologii przemysłowych. Dzięki innowacyjnym produktom i wysokiej jakości usługom wspieramy naszych klientów na całym świecie w efektywnej realizacji kompleksowych procesów w produkcji biofarmaceutycznej oraz w badaniach laboratoryjnych. Naszymi klientami są zakłady przemysłu biotechnologicznego, farmaceutycznego i spożywczego, państwowe instytuty i laboratoria badawcze oraz liczne placówki naukowe.

Gama produktów Sartorius to:

- wagi laboratoryjne, analizatory wilgotności wraz z oprogramowaniem i akcesoriami wagowymi
- wzorce masy klas E1, E2, F1, F2 (także ze świadectwami wzorcowania)
- systemy przygotowania wody laboratoryjnej klasy I, II, III (odwrócona osmoza, dejonizacja, mikrofiltracja) dostosowane do potrzeb klientów
- produkty z zakresu mikrofiltracji i ultrafiltracji: zestawy i gotowe jednostki filtracyjne, filtry membranowe, bibuły i papiery filtracyjne, systemy filtracji stycznej (tzw. cross-flow) a także urządzenia do filtracji odśrodkowej w tym wirówki laboratoryjne
- podłoża mikrobiologiczne i materiały do badania wody metodą filtrów membranowych, urządzenia do badania mikrobiologicznej czystości powietrza
- asortyment do dozowania cieczy (pipety elektroniczne i automatyczne, dozowniki i biurety oraz końcówki do pipet – standardowe, z filtrem, niskoretencyjne)

Sartorius Poland Sp. z o. o.
62-025 Kostrzyn,
ul. Wrzeńska 70
Polska

tel.(48 61) 647 38 30
fax (48 61) 647 38 39
<http://www.sartorius-polska.com>
info.pl@sartorius.com
NIP 7822446263



A&A BIOTECHNOLOGY innovating life science

A&A Biotechnology

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.

A&A Biotechnology s.c.

al. Zwycięstwa 96/98

81-451 Gdynia

www.aabiot.com,

info@aabiot.com

tel. +48 58 698 21 94/95

fax. +48 58 622 85 78



Indeks Autorów



Indeks Autorów

1.	Agacka-Mołdoch M.	86
2.	Baćmaga M.	54
3.	Bahram M.	101
4.	Bakro F.	84
5.	Banach A.	55, 71, 72
6.	Banasiewicz J.	16
7.	Barabasz W.	2, 69
8.	Baranowska M.	18, 32
9.	Behnke-Borowczyk J.	18, 32
10.	Bełka M.	11
11.	Biczak R.	115
12.	Bieganowski A.	38
13.	Błaszczak M.	4, 80
14.	Bohacz J.	42
15.	Borkowska I.	88
16.	Breza-Boruta B.	56
17.	Bulski K.	36
18.	Bzik D.	33
19.	Chernetsky M.	75
20.	Chmiel M. J.	100
21.	Chmiel P.	40
22.	Chmolewska D.	101
23.	Choma A.	5, 64, 68
24.	Ciepiel J.	104
25.	Ciesielski S.	6, 24, 34
26.	Ciołek B.	85
27.	Ćłapa T.	96
28.	Curyło K.	102
29.	Cybulska K.	33
30.	Czajka E.	39
31.	Czarnecka D.	86
32.	Czubacka A.	86, 93
33.	Czyż E.A.	37, 60
34.	Damszel M.	24
35.	Derkowska E.	25, 89
36.	Dresler S.	88
37.	Dulski T.	34

Indeks Autorów

38.	Dunikowska D.	103
39.	Dworaczek K.	67
40.	Dziadczyk E.	21
41.	Feledyn-Szewczyk B.	87, 90
42.	Frąc Magdalena	11, 49, 57, 62, 95, 112
43.	Frąc Mateusz	25
44.	Frączek K.	36
45.	Francikowski J.	20
46.	Furtak K.	58, 59, 79
47.	Gaj R.	11
48.	Gajda A.M.	37, 60
49.	Gałązka A.	17, 22, 48, 49, 58, 59, 71, 72, 79, 104, 105, 113, 114
50.	Gawryjołek K.	104, 105
51.	Gęca M.	64, 91, 111
52.	Głuszek S.	25
53.	Goraj W.	38, 71, 72, 79
54.	Goryluk-Salmonowicz A.	61, 80
55.	Górniak D.	80
56.	Górski A.	71, 72
57.	Grąż M.	46
58.	Gruszecki W.I.	38
59.	Gryta A.	62
60.	Grzędziel J.	17, 49, 55, 58, 59, 71, 72, 79, 104, 105, 114
61.	Grzęda E.	113, 114
62.	Hanaka A.	42, 63, 88, 109, 110
63.	Hannula S.E.	11
64.	Hryniewicz I.	100
65.	Janczarek M.	106, 108
66.	Janusz G.	43, 44, 45, 73, 74, 85
67.	Jarecki W.	93
68.	Jarozuk-Ściśeł J.	42, 48, 63, 73, 74, 88, 91, 92, 111
69.	Jarosz-Wilkołazka A.	91, 111
70.	Jaszek M.	44, 45, 46
71.	Jaworski A.	8
72.	Jędryczka M.	11, 84, 96
73.	Jończyk K.	104, 105
74.	Józefczak A.	47
75.	Kaczmarek J.	84, 96

Indeks Autorów

76.	Kalita M.	75, 78
77.	Karaś M.A.	67
78.	Kartawik N.	18, 32
79.	Kazimierczak W.	97
80.	Klepka A.	106
81.	Koba L.	93
82.	Kołodzyńska D.	91, 111
83.	Komaniecka I.	5, 64, 68
84.	Koper P.	12, 40, 43, 44
85.	Korbecka-Glinka G.	93
86.	Korniłowicz-Kowalska T.	42
87.	Korzeniewicz R.	18, 32
88.	Kowalczyk B.	47
89.	Kowalczyk W.	65
90.	Kowalska B.	65
91.	Kowęła G.	109
92.	Kozdrój J.	19
93.	Kozhak U.	109
94.	Kozieł M.	106, 108
95.	Kozłowski K.	34
96.	Krażała A.	66
97.	Księżak J.	86
98.	Kubaczyński A.	38, 71, 72
99.	Kubik-Komar A.	43, 44
100.	Kucharski J.	54, 82
101.	Kudła K.	20
102.	Kukuła K.	20
103.	Kurowski T.	24
104.	Kurzylewska M.	67
105.	Kutkowska J.	39, 67
106.	Kuźniar A.	21, 26, 38, 55, 71, 72, 79, 80, 81
107.	Kwiatkowski P.	110
108.	Lenart-Boroń A.	107
109.	Lipa P.	106, 108
110.	Lipiec J.	57
111.	Lis M.	97
112.	Lisek A.	25, 89
113.	Łukowski A.	18

Indeks Autorów

114.	Majewska M.	63, 73, 74, 88, 92, 109, 110
115.	Makar O.	21
116.	Malarczyk D.	95
117.	Malicka M.	20
118.	Małek A.	47
119.	Małek W.	23
120.	Mamczarz M.	47
121.	Marczak M.	12, 28, 40, 41, 50, 51
122.	Marek-Kozaczuk M.	22, 75, 78
123.	Marosz A.	56
124.	Marzec-Grządziel A.	22, 48
125.	Marzec-Schmidt K.	96
126.	Matuśkiewicz W.	16
127.	Mazur A.	5, 12, 28, 40, 41, 43, 44, 50, 51, 64
128.	Metryka O.	20
129.	Michalska A.	65
130.	Monich R.	93
131.	Nakielska M.	87, 90
132.	Narożna D.	96
133.	Niedźwiecki J.	59
134.	Nowak A.	42, 63, 73, 74, 88, 91, 92, 111
135.	Nowak D.	41
136.	Nowak J.	65
137.	Nurzyńska A.	50
138.	Oleńska E.	23
139.	Olszak-Przybyś H.	93
140.	Oraibi S.	33
141.	Osińska-Jaroszuk M.	46, 91, 111
142.	Oszust K.	57, 112
143.	Ozimek E.	42, 63, 73, 74, 88, 92
144.	Palusińska-Szys M.	47, 75
145.	Panek J.	95
146.	Pastuszka A.	64, 68
147.	Patkowska E.	74, 93
148.	Pawlik A.	43, 44, 46, 73, 74
149.	Pawłowska B.	115
150.	Pecio M.	113
151.	Pękała-Safińska A.	67

Indeks Autorów

152.	Pikulicka A.	2, 69
153.	Pleszczyńska M.	97
154.	Polakowski C.	38
155.	Popowska M.	61
156.	Przemieniecki W.S.	24
157.	Przybył M.	25
158.	Puławska J.	13
159.	Pytlak A.	38, 66, 71, 72
160.	Radzikowski P.	87
161.	Ramzi N.	96
162.	Reszczyńska E.	88
163.	Rogalski J.	85
164.	Romanyuk N.	21
165.	Sajnaga E.	97
166.	Sas-Paszt L.	25, 89
167.	Siebielec G.	113, 114
168.	Siebielec S.	113, 114
169.	Sierota Z.	24
170.	Skorupska A.	12, 22
171.	Skowronek M.	97
172.	Skórzyńska-Polit E.	21
173.	Słomka A.	73, 92
174.	Słowakiewicz M.	66
175.	Smolińska U.	89
176.	Sochaczewska A.	79, 81
177.	Staszczak M.	44
178.	Stefanowicz A. M.	112
179.	Stępkowski T.	16
180.	Stępniewska Z.	26, 38, 71, 72
181.	Stępniewski W.	26
182.	Sujak A.	38
183.	Sulej J.	45, 46
184.	Sułowicz S.	20
185.	Sumorek A.	108
186.	Sumorok B.	89
187.	Suśniak K.	64
188.	Swatek A.	44
189.	Szafranek-Nakoneczna A.	38, 71, 72

Indeks Autorów

190.	Szczech M.	65
191.	Śnieżyńska I.	66
192.	Talarek K.	41
193.	Telesiński A.	102, 103, 115
194.	Thijs S.	23
195.	Trzeciński P.	25, 89
196.	Turska-Szewczuk A.	67
197.	Tyśkiewicz R.	42, 48, 73, 74, 92
198.	Urbanik-Sypniewska T.	39, 106, 108
199.	Usowicz B.	57
200.	Vangronsveld J.	23
201.	Wdowiak-Wróbek S.	47, 75, 78
202.	Wiater A.	97
203.	Widomski M.K.	26
204.	Wielbo J.	39, 43, 44, 78
205.	Winciorek J.	65
206.	Winiarski R.	76, 77
207.	Włodarczyk Karolina	78
208.	Włodarczyk Kinga	21, 79, 81
209.	Wolińska A.	21, 26, 79, 80, 81
210.	Wołczańska A.	47
211.	Wójcik Magdalena	28, 40, 50, 51
212.	Wójcik Małgorzata	88
213.	Woźniak M.	48, 49, 79
214.	Wyszkowska J.	54, 82
215.	Zaborowska M.	82
216.	Zamłyńska K.	64
217.	Zielenkiewicz U.	80
218.	Żebracki K.	5, 12, 28, 40, 41, 43, 44, 50, 51, 64, 68

PATRONATY NAUKOWE TOWARZYSTW



POLSKIE TOWARZYSTWO
GENETYCZNE



POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW



POLSKIE TOWARZYSTWO
MYKOLOGICZNE



SPONSORZY



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science



eurofins

Genomics



EUR_X[®]
MOLECULAR
BIOLOGY
PRODUCTS



sartorius

PRECOPTIC Co.