

**IV OGÓLNOPOLSKA MIKROBIOLOGICZNA  
KONFERENCJA NAUKOWA  
MICROBS**



**IV OGÓLNOPOLSKA MIKROBIOLOGICZNA  
KONFERENCJA NAUKOWA  
MICROBS**

Redakcja:  
Barbara Wrzyszc  
Alicja Danielewska

Lublin 2019

# **IV OGÓLNOPOLSKA MIKROBIOLOGICZNA KONFERENCJA NAUKOWA MICROBS**

Naęczów, 13-14 czerwca 2019 r.

Redakcja:

Barbara Wrzyszczyk

Alicja Danielewska

Skład i łamanie:

Magdalena Jaśkowiak

Projekt okładki:

Marcin Szklarczyk

© Copyright by Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ISBN 978-83-66261-23-5

Wydawca:

Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ul. Głowackiego 35/348

20-060 Lublin

[www.fundacja-tygiel.pl](http://www.fundacja-tygiel.pl)

## **Komitet Naukowy**

Prof. dr hab. Katarzyna Hrynkiewicz

Prof. dr hab. n. farm. Anna Malm

Dr n. farm. Anna Biernasiuk

Dr hab. Sebastian Gnat

Dr Agnieszka Kuźniar

Dr Anna Pytlak

## **Komitet Organizacyjny**

Ewelina Chodźko

Alicja Danielewska

Magdalena Jaśkowiak

Aneta Kasprzak

Kamil Maciąg

Monika Maciąg

Aleksandra Surma

Marcin Szklarczyk

Barbara Wrzyszc

## **Organizator**



Fundacja  
**TYGIEL**

## Patroni Honorowi



Marszałek  
Województwa Lubelskiego  
*Jarosław Stawiarski*

## Patroni Medialni



**laboratoria.xtech.pl**



**Laboratorium**  
PRZEGLĄD OGÓLNOPOLSKI

## SPIS TREŚCI

### *Wystąpienia Gości Honorowych*

Endofity halofitów: różnorodność, funkcje i zastosowanie ..... 11

Olejki eteryczne jako czynniki przeciwbakteryjne (Essential oils as antibacterial agents) ..... 12

### *Wystąpienia ustne*

Analiza  $\alpha$ - i  $\beta$ - różnorodności mikrobiomu i mykobiomu w systemie Paulownia – gleba ryzosferowa (Analysis of  $\alpha$ - and  $\beta$ - diversity of the microbiome and mycobiome in the Paulownia– rhizosphere soil system) ..... 17

Czy drożdże się starzeją? (Does yeast age?)..... 19

Efekty działania lizozymu ludzkiego na komórki *Candida albicans* – obrazowanie topografii oraz analiza właściwości powierzchni komórek z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych (The effects of human lysozyme action on *Candida albicans* cells – topography imaging and analysis of cell surface properties using atomic force microscopy) .... 21

Fermentacja i fotofermentacja jako metody produkcji wodoru (Fermentation and photofermentation as methods for hydrogen production) ..... 23

Wpływ inokulacji na wzrost roślin i biodostępność zanieczyszczeń w glebach zanieczyszczonych osadem dennym (Bacterial inoculation affects plant growth and bioavailability of organic contaminants in bottom sediment contaminated soils)..... 25

### *Postery naukowe*

Badanie roli wybranych białek degradosomu w utrzymaniu równowagi poziomu RNA w komórkach prątków kwasoopornych (Analysis of selected degradosome proteins in maintaining the balance of RNA levels in acid-fast *Mycobacteria*) ..... 29

Charakterystyka genetyczna szczepów *Klebsiella pneumoniae* New Delhi (Genetic characteristics of *Klebsiella pneumoniae* New Delhi strains) ..... 31

Ekonomiczna metoda krioprezerwacji *Chlorella vulgaris* adaptowanej do hodowli na odpadach z biogazowni w Piaszczynie (The economic method of cryopreservation of *Chlorella vulgaris* adapted for breeding on waste from a biogas plant in Piaszczyna) ..... 33

Identyfikacja bakterii pochodzących ze składowiska odpadów pohutniczych (Identification of bacteria from the smelter wasteland) ..... 35

Izolacja pęcherzyków błony zewnętrznej (OMVs) endofitycznych bakterii z rodzaju <i>Rhizobium</i> (Isolation of outer membrane vesicles (OMVs) produced by endophytic bacteria from the genus <i>Rhizobium</i> ) .....	37
Ocena jakości mikrobiologicznej ekstraktów z owoców aronii i bzu czarnego (Evaluation of microbiological quality of chokeberry and elderberry fruit extracts) .....	39
Określenie parametrów aklimacji <i>Chlorella vulgaris</i> do podwyższonych stężeń odcieków i odpadowego CO <sub>2</sub> (Determination of acclimation parameters of <i>Chlorella vulgaris</i> to increased concentrations of leachate and waste CO <sub>2</sub> ) .....	41
Potencjał immunostymulujący β-głukanu względem komórek linii monocytarno – makrofagowej THPX1BLUE™ (Immunostimulatory potential of β-glucan towards the monocyte – macrophage cell line THPX1BLUE™) .....	44
Produkcja enancjomerów kwasu mlekowego przez bakterie (Production of lactic acid enantiomers in bacteria) .....	47
Rola bakteryjnych pęcherzyków błonowych w oddziaływaniu gospodarz – patogen (The role of membrane vesicles in host – pathogen interaction).....	49
Sylimaryna, popularny suplement diety wykazuje aktywność przeciwrzybiczną wobec <i>Candida</i> spp. (Silymarin, a popular dietary supplement shows anti- <i>Candida</i> activity) .....	51
W3BUL – mutant <i>Euglena gracilis</i> , jako model ewolucji redukcyjnej chloroplastu ( <i>Euglena gracilis</i> W3BUL bleached strain as a model for reductive evolution of plastids) ....	53
Wpływ syntetycznych pochodnych 1,4-naftochinonów na ekspresję wybranych genów związanych z wirulencją <i>C. albicans</i> (The effect of synthetic derivatives of 1,4-naphthoquinones on the expression of selected genes involved in the virulence of <i>C. albicans</i> ).....	55
Wytwarzanie pęcherzyków błonowych przez <i>N. gonorrhoeae</i> w różnych warunkach środowiskowych (Production of outer membrane vesicles by <i>Neisseria gonorrhoeae</i> in different environmental conditions).....	57
Zróznicowanie wrażliwości środowiskowych szczepów <i>Malassezia pachydermatis</i> na azole (Differentiation of susceptibility of <i>Malassezia pachydermatis</i> field strains to azoles) .....	59



**Wystąpienia  
Gości Honorowych**



## Endofity halofitów: różnorodność, funkcje i zastosowanie

**prof. dr hab. Katarzyna Hrynkiewicz**, [hrynk@umk.pl](mailto:hrynk@umk.pl), Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Lwowska 1, 87-100, Toruń

Zasolenie gleb jest jednym z ważniejszych czynników środowiskowych, który negatywnie wpływa na wzrost roślin i znacznie obniża ilość uzyskiwanych plonów. Wzrost zasolenia gleb może być efektem naturalnych procesów zachodzących w środowisku (np. zmiany geologiczne, hydrologiczne lub klimatyczne), jak również wynikać z działalności antropogenicznej (np. niewłaściwe metody nawadniania i nawożenia, wylesianie). Halofity to nieliczna grupa roślin, która w wyniku ewolucyjnego przystosowania się do środowiska wykształciła szereg właściwości umożliwiających im wzrost i rozwój w warunkach podwyższonego zasolenia. Ponieważ wszystkie rośliny zasiedlane są przez specyficzny mikrobiom, można przypuszczać, że mechanizmy adaptacji halofitów do wysokiego zasolenia mogą być związane z wysoce wyspecjalizowanymi, halotolerancyjnymi mikroorganizmami endofitycznymi. Endofity halofitów mogą stymulować wzrost roślin i wpływać na ich tolerancję na niekorzystne warunki środowiskowe. Zagadnienia te badane są przez nasz zespół m.in. w odniesieniu do gatunku *Salicornia europaea*, który jest halofitem charakteryzującym się najwyższą tolerancją na zasolenie gleb.

Podczas wykładu zostaną zaprezentowane trzy zagadnienia badawcze: (1) Wpływ czynników środowiskowych na ekspresję genów w *S. europaea*; (2) Charakterystyka bakteryjnych i grzybowych endofitów *S. europaea*; (3) Aplikacyjny charakter endofitów i możliwość ich wykorzystania w rolnictwie. Podczas wystąpienia przedstawione zostaną najciekawsze wyniki doświadczeń, które wykonano w oparciu o najnowsze techniki badawcze umożliwiające analizę halotolerancyjnych endofitów.

Podziękowanie:

Autorka pragnie podziękować dr Soni Szymańskiej i mgr Bliss Furtado za przeprowadzenie eksperymentów. Badania zostały sfinansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki (Polska) (DEC-2012/07/B/NZ9/01801) oraz z programu badań i innowacji Unii Europejskiej „Horyzont 2020” w ramach umowy o grant Marie Skłodowska-Curie 676480.

## Olejki eteryczne jako czynniki przeciwbakteryjne

**prof. dr hab. n. farm. Anna Malm**, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej  
z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

W ostatnich latach można obserwować występującą w nowoczesnej medycynie tendencję do stosowania preparatów pochodzenia naturalnego, głównie roślinnego. Przetworami roślinnymi o wielokierunkowej aktywności biologicznej/farmakologicznej są olejki eteryczne. Są to mieszaniny związków lotnych, wytwarzane przez rośliny jako ich wtórne metabolity. Składają się głównie z terpenów i terpenoidów oraz innych składników o niskiej masie cząsteczkowej. Za działanie przeciwdrobnoustrojowe, w tym przeciwbakteryjne olejków eterycznych odpowiadają kolejno, według aktywności: aldehydy, alkohole, ketony, estry, etery oraz węglowodory. Składnikami chemicznymi olejków o silnej aktywności przeciwbakteryjnej są fenole, a wśród nich tymol, karwakrol i eugenol. Większość olejków eterycznych wykazuje działanie bakteriobójcze. Bakterie Gram-dodatnie są zazwyczaj bardziej wrażliwe na działanie olejków eterycznych niż bakterie Gram-ujemne, co wynika najprawdopodobniej z odmiennej budowy ściany komórkowej. Olejki eteryczne mogą być stosowane w terapii wielu schorzeń, w tym chorób o podłożu infekcyjnym.

## **Essential oils as antibacterial agents**

Recently, a tendency to use in modern medicine the preparations of natural origin, especially of plant origin, can be observed. Essential oils are plant preparations of multidirectional biological/pharmacological activity. They are the mixtures of volatile compounds, being the secondary metabolites of plants. They are mainly composed of terpens and terpenoids as well as other compounds with low molecular weight. The following compounds of essential oils are responsible for antimicrobial activity, including antibacterial activity: aldehydes, alcohols, ketones, esters, ethers and hydrocarbons according with a potency of their action. Phenols such as thymol, eugenol and carvacrol, show the strong antibacterial activity. The majority of essential oils show bactericidal action. Gram-positive bacteria are usually more sensitive to essential oils than Gram-negative bacteria, most probably due to differences in the composition of cell wall. Essential oils may be used in therapy of several diseases, including infectious diseases.



# **Wystąpienia ustne**





## **Analiza $\alpha$ - i $\beta$ - różnorodności mikrobiomu i mykobiotu w systemie Paulownia – gleba ryzosferowa**

**Małgorzata Woźniak**, *m.wozniak@iung.pulawy.pl*, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, [www.iung.pulawy.pl](http://www.iung.pulawy.pl)

**Anna Gałązka**, *agalazka@iung.pulawy.pl*, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, [www.iung.pulawy.pl](http://www.iung.pulawy.pl)

**Jarosław Grządziel**, *jgrzadzziel@iung.pulawy.pl*, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, [www.iung.pulawy.pl](http://www.iung.pulawy.pl)

**Magdalena Frąc**, *m.frac@ipan.lublin.pl*, Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, <http://www.ipan.lublin.pl>

Paulownia sp. jest szybko rosnącą odmianą drzewa liściastego, należącego do rodziny Paulowniaceae. Roślina ta jest jednym z najbardziej popularnych drzew wykorzystywanych na plantacjach lasów o krótkiej rotacji (SRF – short rotation forestry). Mikroorganizmy zasocjowane z tkankami gospodarza roślinnego i z ryzosferą stanowią kompleksowy ekosystem określający liczne i różnorodne procesy biologiczne. Głównym celem przeprowadzonych badań było porównanie mikrobiomu i mykobiotu ryzosfery i endosfery gatunku Paulownia elongata x Paulownia fortunei na podstawie miar  $\alpha$ - i  $\beta$ - różnorodności. Mikrobiom i mykobiot rośliny oraz gleby ryzosferowej został scharakteryzowany za pomocą sekwencjonowania metagenomowego fragmentu genu 16S rRNA (mikrobiom) i regionu ITS (mykobiot) na platformie Illumina MiSeq. Klasyfikacja taksonomiczna wykazała obecność grzybów należących do typu Olpidiomycota, Ascomycota i Basidiomycota. Natomiast w mikrobiomie bakteryjnym dominowały bakterie skalsyfikowane do typu Proteobacteria i Acinobacteria. Ogólne bogactwo bakterii i grzybów ryzosferycznych (na podstawie wskaźników Chao 1, Shannon i Simpson) było wyższe niż w próbkach endosfery pochodzących z tych samych roślin.

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

## **Analysis of $\alpha$ - and $\beta$ - diversity of the microbiome and mycobiome in the Paulownia – rhizosphere soil system**

Paulownia sp. is a fast growing variety of deciduous tree, which belongs to Paulowniaceae family. This plant is one of the most popular trees used in short rotation forestry (SRF). Microorganisms associated with plant host tissues and rhizosphere are a comprehensive ecosystem defining numerous and diverse biological processes. The main goal of this study was to compare the rhizospheric and endophytic microbiome and mycobiome of Paulownia elongata and Paulownia fortunei based on the metrics of  $\alpha$ - and  $\beta$ -diversity. The microbiome and mycobiome of the plant and rhizosphere soil were characterized by metagenomic sequencing of the 16S rRNA gene (microbiom) and ITS region (mycobiome) on the Illumina MiSeq platform. Taxonomic classification showed the presence of fungi belonging to the Olpidiomycota, Ascomycota and Basidiomycota types. While, the type of Proteobacteria and Acinobacteria dominated in the bacterial microbiome. Overall rhizospheric bacterial and fungal richness (based on Chao 1, Shannon and Simpson indices) was higher than in endosphere samples derived from the same plants.

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

## Czy drożdże się starzeją?

**Mateusz Mołoi**, [mateuszmolon@univ.rzeszow.pl](mailto:mateuszmolon@univ.rzeszow.pl), Zakład Biochemii i Biologii Komórki, Uniwersytet Rzeszowski

**Karolina Stępień**, [karolina.stepien89@interia.pl](mailto:karolina.stepien89@interia.pl), Zakład Biochemii i Biologii Komórki, Uniwersytet Rzeszowski

**Dominik Wojdyła**, [dominikwojdyla@o2.pl](mailto:dominikwojdyla@o2.pl), Zakład Biochemii i Biologii Komórki, Uniwersytet Rzeszowski

Starzenie jest wieloczynnikowym procesem prowadzącym do upośledzenia funkcji komórek, tkanek, narządów, a w konsekwencji prowadzi do śmierci. Wszyscy chcemy żyć długo i w dobrym zdrowiu, jednakże do dnia dzisiejszego nie istnieje eliksir młodości. Dlatego dynamicznie rozwijająca się współczesna biogerontologia, próbuje szukać coraz to nowych substancji, czynników czy też szlaków metabolicznych odpowiedzialnych za zwolnienie starzenia się. W badaniach wykorzystuje się szereg organizmów modelowych, w tym i drożdże pączkujące. Standardowo w badaniach nad starzeniem z wykorzystaniem drożdży stosowane są dwa podejścia: model replikacyjny i chronologiczny.

Model replikacyjnego starzenia odwzorowuje procesy starzenia się komórek aktywnych mitotycznie wyższych Eukariota w tym i ludzi. W modelu tym starzenie określone jest przez liczbę komórek potomnych, jaką komórka „matka” jest w stanie wyprodukować w trakcie swojego życia. Z kolei model chronologicznego starzenia ma odzwierciedlić zmiany na poziomie komórkowym podczas fazy postmitotycznej. W modelu tym długowieczność jest określona na podstawie przeżywalności komórek nieaktywnych mitotycznie.

Dziś wiemy, że drożdże starzeją się, a tempo tego procesu zależy od wielu czynników, co zostanie zaprezentowane podczas wystąpienia.

## **Does yeast age?**

Aging is a multifactorial process leading to the impairment of cell, tissue and organ functions, and consequently ending in death. We all want to live long and in good health but to this day no elixir of youth has been found. Therefore, the dynamically growing biogerontology is trying to look for new substances, factors or metabolic pathways that are responsible for triggering of aging. The research uses a number of model organisms, including the budding yeast. As a standard, in yeast aging studies two approaches are used, namely the replication and the chronological aging models.

The replication aging model shows the aging processes in mitotic active cells of higher Eukaryote, including humans. In this model, aging is determined by the number of daughter cells that the “mother” cell is able to produce during its life. In turn, the chronological aging model is intended to reflect changes at the cellular level during the post-mitotic phase. In this model, longevity is determined based on the survival of mitotic-inactive cells.

Nowadays we know that yeast does indeed age, and the rate of that process depends on many factors, which will be presented during the presentation.

## **Efekty działania lizozymu ludzkiego na komórki Candida albicans – obrazowanie topografii oraz analiza właściwości powierzchni komórek z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych**

**Katarzyna Grygorczuk-Płaneta**, [grygorczukka@gmail.com](mailto:grygorczukka@gmail.com), Zakład Immunobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin; <https://www.umcs.pl/pl/zaklad-immunobiologii,1837.htm>

**Krzysztof Skrzypiec**, [krzysztof.skrzypiec@umcs.pl](mailto:krzysztof.skrzypiec@umcs.pl), Laboratorium Analityczne, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Plac M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin; <https://www.umcs.pl/pl/laboratorium-analityczne,2403.htm>

**Małgorzata Cytryńska**, [cytryna@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:cytryna@poczta.umcs.lublin.pl), Zakład Immunobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin; <https://www.umcs.pl/pl/zaklad-immunobiologii,1837.htm>

Lizozym stanowi ważny składnik odporności nieswoistej człowieka. Poza działaniem przeciwbakteryjnym, lizozymy mają też aktywność przeciwgrzybową, której mechanizm pozostaje nie w pełni wyjaśniony. Nasze badania wykazały, że rekombinowany lizozym ludzki działa bójczo wobec oportunistycznego patogena *Candida albicans*.

Podjęto badania w celu określenia efektów działania lizozymu ludzkiego na strukturę i właściwości (elastyczność, adhezja, chropowatość) powierzchni komórek *C. albicans*. Wykorzystano szczep dziki i mutanty w ścianie komórkowej: NGY357 i Myco3, o obniżonej zawartości, odpowiednio, mannanów/fosfomannanów i chityny. Obrazowanie i analizę właściwości powierzchni przeprowadzono z użyciem mikroskopii sił atomowych (AFM). Wykazano, że topografia powierzchni komórek szczepu dzikiego *C. albicans* oraz mutantów NGY357 i Myco3 różni się między sobą. Pod wpływem lizozymu ludzkiego dochodziło do spadku elastyczności powierzchni komórek szczepu dzikiego *C. albicans* oraz mutantu NGY357, natomiast poziom chropowatości i adhezji nie ulegał zmianie. Przeciwnie, powierzchnia komórek mutantu Myco3 poddanych działaniu lizozymu stawała się bardziej elastyczna,

czemu towarzyszył wzrost chropowatości i adhezji. Stwierdzone różnice wynikają prawdopodobnie z różnic w budowie ściany komórkowej badanych *C. albicans*. Dalsze badania z użyciem tych mutantów pozwolą na określenie, które składniki ściany komórkowej są istotne dla oddziaływania lizozymu ludzkiego z komórkami drożdżaka *C. albicans*.

### **The effects of human lysozyme action on *Candida albicans* cells – topography imaging and analysis of cell surface properties using atomic force microscopy**

Lysozyme is an important component of the human innate immunity. In addition to antibacterial activity, lysozymes also have antifungal activity, the mechanism of which remains incompletely explained. Our research has shown that the recombinant human lysozyme can kill the opportunistic pathogen *Candida albicans*.

Research was undertaken to determine the effects of human lysozyme on the structure and properties (elasticity, adhesion, surface roughness) of *C. albicans* cells. The wild-type strain and two cell wall mutants were used: NGY357 and Myco3, with a reduced content of mannans/fosfomannans and chitin, respectively. Imaging and analysis of surface properties were carried out using atomic force microscopy (AFM). It has been shown that the surface topography of *C. albicans* wild-type cells and both the mutants are different. Under the influence of human lysozyme, there was a decrease in the cell surface elasticity of the *C. albicans* wild-type strain and the NGY357 mutant, while the level of roughness and adhesion did not change. In contrast, elasticity of the surface of the Myco3 mutant cells treated with lysozyme increased, which was accompanied by increased roughness and adhesion. The differences observed probably result from differences in the cell wall structure of the *C. albicans* studied. Further studies using these mutants will allow to determine which cell wall components are relevant for the interaction of human lysozyme with *C. albicans* cells.

## **Fermentacja i fotofermentacja jako metody produkcji wodoru**

**Małgorzata Waligórska**, *malgorzata.waligorska@konin.edu.pl*, Katedra Dietetyki i Kosmetologii, Wydział Kultury Fizycznej i Ochrony Zdrowia, Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa w Koninie, *www.pwsz.konin.edu.pl*

Zwiększające się światowe zapotrzebowanie na energię, zmniejszające się zasoby paliw kopalnych oraz degradacja środowiska naturalnego zachęciły badaczy do poszukiwania alternatywnych odnawialnych, zrównoważonych, przyjaznych środowisku źródeł energii. Jako paliwo przyszłości został uznany wodór produkowany metodami biologicznymi (biowodór), ponieważ jest odnawialny, podczas spalania nie emituje gazów cieplarnianych i uwalnia duże ilości energii na jednostkę masy oraz może być przekształcony w elektryczność w ogniwach paliwowych. Ponadto otrzymywanie biowodoru może być związane z utylizacją odpadów, ponieważ jako surowiec do jego produkcji mogą być stosowane odpady organiczne, produkty uboczne pochodzące z procesów przemysłowych i biomasa. Uważa się, że obecnie wśród biologicznych metod otrzymywania wodoru najbardziej obiecującymi są fermentacja (ciemna fermentacja) i fotofermentacja.

Celem wystąpienia jest przedstawienie aktualnej wiedzy dotyczącej produkcji wodoru w procesie fermentacji i fotofermentacji. Scharakteryzowane zostaną szlaki metaboliczne prowadzące do wytwarzania wodoru, czyste i mieszane kultury bakterii wykorzystywane w tych procesach oraz stosowane manipulacje genetyczne zwiększające wydajność procesów. Omówione zostaną czynniki takie jak: rodzaj surowca, warunki prowadzenia procesów (okresowy lub ciągły, proces z biomasą zawieszoną lub biofilm) oraz strategię zwiększające wydajność produkcji wodoru takie jak połączenie fermentacji i fotofermentacji w system jedno lub dwuetapowy. Ponadto zostaną przedyskutowane zalety i wady stosowanych metod oraz kluczowe kwestie, które muszą być rozwiązane przez komercjalizację tych systemów.

## **Fermentation and photofermentation as methods for hydrogen production**

Soaring energy demand, depleting fuel resources and natural environment degradation have encouraged researchers to search alternative, renewable, sustainable, eco-friendly energy sources. Hydrogen produced using biological methods (biohydrogen) has been considered as future fuel since it is renewable, does not emit the greenhouse gases, liberates large amount of energy per unit weight in combustion and can be converted into electricity by fuel cell. Moreover, production of biohydrogen can be associate with utilization of organic wastes, industrial manufacturing process by-products and biomass as feedstock. Nowadays, between biological processes of H<sub>2</sub> production fermentation (dark fermentation) and photofermentation are considered to be the most promising methods.

The purpose of the speech is to demonstrate the state of art of fermentative and photofermentative biohydrogen production. Metabolic pathways, pure and mixed culture and metabolic engineering for augmentation of hydrogen production will be characterized. Factors such as use of different feedstock, cultivation conditions (batch and continuous culture, suspended biomass or biofilm) and strategies for enhanced biohydrogen production such as an integration fermentation and photofermentation in single stage or sequential two-stage system will be talked over. Furthermore, advantages and disadvantages of using these methods and crucial issues that should be solved before commercialization will be discussed.



## **Wpływ inokulacji na wzrost roślin i biodostępność zanieczyszczeń w glebach zanieczyszczonych osadem dennym**

**Sylwia Siebielec**, *ssiebielec@iung.pulawy.pl*, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy

**Grzegorz Siebielec**, *gs@iung.pulawy.pl*, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy

**Magdalena Urbaniak**, *m.urbaniak@erce.unesco.lodz.pl*, Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, Łódź

Osady denne nagromadzone w rzekach lub zbiornikach zaporowych stwarzają ryzyko związane z zanieczyszczeniem pierwiastkami śladowymi lub związkami organicznymi. Istnieje potrzeba opracowania zrównoważonych metod wykorzystania osadów w środowisku. Próbkę osadów zebrano z sekwencyjnej sedimentacyjnego biofiltra zlokalizowanego na rzece Sokołówka w Łodzi. Osady były umiarkowanie zanieczyszczone metalami, dioksynami i wielopierścieniowymi węglowodarami aromatycznymi (WWA). Osad zmieszano z gliną piaszczystą w proporcji 1:10. Przeprowadzono badania wazonowe mające na celu ocenę skuteczności inokulacji gleby szczepami bakteryjnymi w inaktywacji pierwiastków śladowych i stymulacji rozkładu dioksyn i WWA. W badaniu przetestowano dwa szczepy bakterii wyizolowane z zanieczyszczonych obszarów. Zmierzone parametry obejmowały wzrost i skład roślin, zdolność do ekstrakcji pierwiastków śladowych i szybkość rozkładu zanieczyszczeń organicznych. Inokulacja gleb szczepami bakterii poprawiła wydajność rośliny i złagodziła fitotoksyczność mieszaniny zanieczyszczeń. Z drugiej strony osady zwiększyły aktywność enzymów glebowych.

Badania przeprowadzone w ramach projektu GREENLAND, finansowanego ze środków 7. Programu Ramowego.

## **Bacterial inoculation affects plant growth and bioavailability of organic contaminants in bottom sediment contaminated soils**

Bottom sediments accumulated in rivers or dam reservoirs pose a risk related to contamination with trace elements or organic compounds. There is a need to develop sustainable methods for utilisation of sediments in the environment. Sediment aliquots were collected from a sequential sedimentation – biofiltration system located on the Sokołówka River, Łódź. The sediments were moderately contaminated with metals, dioxins and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). The sediment was mixed with loamy sand soil in 1:10 proportion. The pot study was conducted aimed at assessing effectiveness of soil inoculation with bacteria strains in inactivation of trace elements and stimulation of decomposition of dioxins and PAHs. ). Two bacteria strains isolated from contaminated sites were tested in the study. The measured parameters included plant growth and composition, extractability of trace elements and decomposition rate of organic contaminants. Soil inoculation with the bacteria strains improved plant performance and alleviated the phytotoxicity of the mixture of contaminants. On the other hand the sediments enhanced soil enzyme activities.

Badania zostały sfinansowane ze środków projektu GREENLAND, realizowanego w ramach 7 Programu Ramowego, nr projektu 266124.

# **Postery naukowe**



## **Badanie roli wybranych białek degradosomu w utrzymaniu równowagi poziomu RNA w komórkach prątków kwasoopornych**

**Ewelina Lechowicz**, *elechowicz93@gmail.com*, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego, <http://www.biol.uni.lodz.pl/>, Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, <http://www.ibmpan.pl>

**Przemysław Płociński**, *pplocinski@cbm.pan.pl*, Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, <http://www.ibmpan.pl>

**Jarosław Dziadek**, *jdziadek@cbm.pan.pl*, Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, <http://www.ibmpan.pl>

Fosforylaza polinukleotydomowa (PNPaza) oraz polimeraza poli(A) (PAPI) to dwa enzymy metabolizmu RNA biorące udział w poliadenylacji. Według ostatnich doniesień PNPaza stanowi kluczowy składnik kompleksu białkowego jakim jest degradosom RNA prątków. Wykazano, że wraz z RNazą E wpływa na poziom poszczególnych transkryptów regulonu uśpienia metabolicznego (DosR). Celem badań było określenie możliwych ról PNPazy oraz enzymów rdzenia degradosomu RNA w adaptacji mykobakterii do wejścia w stan uśpienia i wyjścia z niego. Aby uzyskać stan uśpienia metabolicznego wykorzystano model hipoksji Wayn'a. Korelacja poziomu PNPazy i ilości transkryptów związanych z uśpieniem była badana w różnych punktach czasowych podczas wzrostu, uśpienia i w czasie reaeracji. Analizie poddano szczepy Cas9/CRISPR z regulowaną ekspresją PNPazy, RNazy E, RNazy J i RhlE. Poziom PNPazy badano za pomocą analizy Western Blot, poziomy genów regulonu DosR zmierzono za pomocą reakcji PCR w czasie rzeczywistym, poziom wzrostu oraz przeżywalność komórek wyznaczono poprzez ocenę gęstości optycznej i liczby jednostek koloniotwórczych. Szczepy pozbawione PNPazy i RNazy E słabiej przeżywały w warunkach stanu niedoboru tlenu. Szczep PNPaza Cas9 był zdolny do regeneracji podczas reaeracji w przeciwieństwie do szczepu RNaza E Cas9. Na podstawie sekwencjonowania całkowitego RNA zabserwowano, że wyciszenie PAPI za pomocą systemu Cas9 doprowadziło do zmniejszenia poziomu genów regulonu DosR, podobnie jak w przypadku w szczepu PNPaza Cas9.

## **Analysis of selected degradosome proteins in maintaining the balance of RNA levels in acid-fast Mycobacteria**

Polynucleotide phosphorylase (PNPase) and Poly(A) polymerase (PAPI) are the two enzymes capable of modifying RNA on a global scale via polyadenylation. PNPase was recently described as a key component of a macromolecular protein complex in mycobacteria, the RNA degradosome. Together with RNase E, it was shown to impact the levels of several transcripts of the dormancy regulon. The current study was set to investigate possible roles of PNPase and core RNA degradosome enzymes for the mycobacterial adaptation to enter and exit dormancy. Wayne's model of hypoxia was used to trigger dormancy conditions. Correlation of PNPase levels and the levels of dormancy related transcripts was investigated at various time points during exponential growth, dormancy and reaeration. Cas9/CRISPR strains, with regulated expression of PNPase, RNase E, RNase J, RhlE and PAPI were used in the study. PNPase levels were tested with immunoblotting, levels of the DosR regulon genes were probed with real-time quantitative PCR and the growth rate and cells survival were assessed via optical density recording and counting of colony forming units, respectively. Strains depleted from PNPase and RNase E were not able to survive well in the hypoxic conditions. PNPase Cas9, but not RNase E Cas9, was able to recover normally during reaeration. Finally, silencing of PAPI with Cas9 system led to depletion of dormancy regulon genes, similar to the one seen in PNPase Cas9 strain, judged by total RNA sequencing.

## Charakterystyka genetyczna szczepów *Klebsiella pneumoniae* New Delhi

**Magdalena Fordon**, *magda.fordon@gmail.com*, Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska

**Magdalena Wysocka**, *magwojta@student.pg.gda.pl*, Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska

**Beata Krawczyk**, *beata.krawczyk@pg.edu.pl*, Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska

Bakterie *Klebsiella pneumoniae* New Delhi, posiadające gen oporności na karbapenemy (bla<sub>NDM</sub>) zostały po raz pierwszy wyizolowane w 2008 roku w Szwecji od pacjenta wcześniej hospitalizowanego w Indiach. Bakterie te szybko rozprzestrzeniają się po całym świecie, a od 2011 roku występują również w Polsce. Stanowią one wysokie ryzyko epidemiologiczne dlatego badania mające na celu ułatwienie różnicowania genetycznego tych szczepów oraz ich charakterystykę są niezwykle istotne.

Celem pracy była charakterystyka genetyczna 8 szczepów *Klebsiella pneumoniae* New Delhi wyizolowanych od 7 pacjentów. W tym celu za pomocą techniki PCR sprawdzono obecność genów kodujących czynniki wirulencji, takich jak adhezyny (fimH-1, mrkD, kpn, ycfM), siderofory (irp-1, irp-2, fyuA, entB, iutA, iron), protektyny i inwazy (rmpA, magA), toksyny (hlyA, cnf-1), a także gen *uge*. Wykonano również różnicowanie genetyczne badanych szczepów za pomocą dwóch technik typowania genetycznego – PCR MP (and. Melting Profiles) oraz LM-PCR/Shifter, w celu określenia ich pokrewieństwa genetycznego.

U wszystkich szczepów obecność genu bla<sub>NDM</sub> została potwierdzona za pomocą techniki PCR, a także wykazano u nich bogaty profil czynników wirulencji z wyjątkiem genu magA. Metoda LM-PCR/Shifter okazała się szybką w optymalizacji techniką o porównywalnym z techniką PCR MP potencjale różnicującym.

## **Genetic characteristics of *Klebsiella pneumoniae* New Delhi strains**

*Klebsiella pneumoniae* New Delhi bacteria, which have the carbapenems resistance gene (bla<sub>NDM</sub>) were first isolated in 2008 in Sweden from a patient previously hospitalized in India. These bacteria are rapidly spreading all over the world, and since 2011 they also occur in Poland. They represent a high epidemiological risk, therefore studies aimed at facilitating the genetic differentiation of these strains and their characteristics are extremely important.

The aim of this study was the genetic characterization of 8 strains of *Klebsiella pneumoniae* New Delhi isolated from 7 patients. To this end, the presence of genes coding for virulence factors, such as adhesins (fimH-1, mrkD, kpn, ycfM), siderophores (irp-1, irp-2, fyuA, entB, iutA, iroN), protectines and invasins (rmpA, magA), toxins (hlyA, cnf-1), as well as the uge gene was tested using PCR. Genetic differentiation of the tested strains was also performed using two genetic typing techniques – PCR MP (Melting Profiles) and LM-PCR/Shifter, to determine their genetic affinity.

In all strains, the presence of the bla<sub>NDM</sub> gene was confirmed using the PCR technique. These strains also proved to have a rich profile of virulence factors with the exception of the magA gene. The LM-PCR/Shifter method proved to be quickly optimizable with a differentiation potential comparable to the PCR MP technique.



## **Ekonomiczna metoda krioprezerwacji *Chlorella vulgaris* adaptowanej do hodowli na odpadach z biogazowni w Piaszczyźnie**

**Wiktor Pszczółkowski**, wiktorszczolkowski@gmail.com, Katedra Ekofizjologii Roślin,  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.biol.uni.lodz.pl

**Andrzej Stępiński**, andrzej.stepinski2@gmail.com, Katedra Ekofizjologii Roślin,  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.biol.uni.lodz.pl

**Agata Pszczółkowska**, agatapszczolkowska8@gmail.com, Katedra Ekofizjologii Roślin,  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.biol.uni.lodz.pl

**Zdzisława Romanowska-Duda**, romano@biol.uni.lodz.pl, Katedra Ekofizjologii Roślin,  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.biol.uni.lodz.pl

Na świecie wzrasta zainteresowanie wykorzystaniem mikroglonów, jako źródła cennych składników chemicznych, biopaliw i pożywienia. Poszukuje się szczepów o pożądanych cechach. Mikroglony wyizolowane ze środowiska i uprawiane na typowych sztucznych podłożach mogą z czasem stracić swoje pierwotne właściwości zarówno fenotypowo jak i na poziomie genomu. Ważnym aspektem staje się zabezpieczenie szczepów w możliwie łatwy i ekonomiczny sposób.

Celem badań było określenie możliwości zamrażania mikroalg, przy pomocy zmodyfikowanej przez Autorów metody krioprezerwacji z DMSO w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ . Badanie prowadzono na szczepie *Chlorella vulgaris* zdolnym do wydajnego produkcji biomasy na odcieku z fermentacji metanowej pochodzącej z biogazowni w Piaszczyźnie. Uprawę prowadzono w temp.  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$  z zastosowaniem fotoperiodu 16 h światła, 8 h ciemności. Kultury odwirowano i zawieszono w świeżym medium. Do zamrażania kultur *C. vulgaris* użyto podłoża mineralnego z dodatkiem zróżnicowanych stężeń krioprotektanta: 0%, 5% i 10% DMSO. Procedurę zamrażania przeprowadzono dwu stopniowo, tj. poprzez wstępne schłodzenie kultur do  $6^{\circ}\text{C}$ , a następnie zamrażanie w  $-20^{\circ}\text{C}$ . Kultury rozmrożono i przeprowadzono ich regenerację w ciemności, a następnie uprawiano z zastosowaniem fotoperiodu

16 h światło/8 h ciemność. Po rozmrożeniu badano wzrost i kondycję kultur za pomocą fluorymetrów Handy PEA/LPA2 oraz Aqua Pen C. Wykazano znaczące różnice w tempie regeneracji, dynamice wzrostu i wigorze kultur mikroglonów oraz istotny wpływ stężenia DMSO.

Badania sfinansowane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju: BIOSTRATEG 2, Grant nr. 2/296369/5/NCBR/2016

## **The economic method of cryopreservation of *Chlorella vulgaris* adapted for breeding on waste from a biogas plant in Piaszczyzna**

There is growing interest worldwide in the use of microalgae as a source of valuable chemical components, biofuels and food. Searching for strains with the desired characteristics is being carried out. Microalgae isolated from the environment and grown on typical artificial growth media may over time lose their original properties, both phenotypically and at the genome level. Easy and cost efficient ways to protect strains have become an important issue.

The aim of the study was to determine the possibility of freezing microalgae at  $-20^{\circ}\text{C}$ , using the cryopreservation method with DMSO modified by the authors. The study was carried out on the *Chlorella vulgaris* strain capable of efficient biomass production on the methane fermentation waste from the biogas plant in Piaszczyzna. The cultures were centrifuged and suspended in a fresh medium. For freezing of the *C. vulgaris* cultures a mineral medium with the addition of different concentrations of cryoprotectant: 0%, 5% and 10% DMSO was used.

The freezing procedure consisted of two steps, i.e. pre-cooling of the cultures to  $6^{\circ}\text{C}$ , followed by freezing at  $-20^{\circ}\text{C}$ . After thawing, the growth and condition of the cultures was studied using Handy PEA/LPA2 and Aqua Pen C fluorimeters. Significant differences in the rate of regeneration, growth dynamics and vigor of the microalgae cultures as well as the significant influence of DMSO concentration were found.

Research were supported by National Centre for Research and Development Grant No. BIOSTRATEG 2/296369/5/NCBR/2016.

## **Identyfikacja bakterii pochodzących ze składowiska odpadów pohutniczych**

**Sylwia Siebielec**, *ssiebielec@iung.pulawy.pl*, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy

**Grzegorz Siebielec**, *gs@iung.pulawy.pl*, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy

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

Praca finansowana w ramach projektu „Rola mikroorganizmów w zasiedlaniu składowisk odpadów pohutniczych przez rośliny oraz ich wpływ na biodostępność pierwiastków śladowych”; Preludium 9, UMO-2015/17/N/ST10/03182 oraz realizowana w ramach zadania IUNG-PIB 2.41.

## **Identification of bacteria from the smelter wasteland**

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. In 2016, samples taken from a long-term field experiment (reclamation in 1997) at a waste heap in Piekary Śląskie were collected from a depth of 0-20 cm in three replications. The material was collected from 6 transects representing different combinations of sewage sludge and by-product lime rates. The method of plate dilutions was used to determine the total number selected groups of bacteria which was expressed as the number of colonies (CFU) in 1 gram of air dried soil matter. Then bacterial species identification was performed by 16S rDNA sequencing and PCR genotyping of strains.

Research within the project „Role of microorganisms in colonization of smelter wastelands by plants and their impact on bioavailability of trace elements”; Preludium 9, UMO-2015/17/N/ST10/03182 and IUNG-PIB programme, task 2.41.

## **Isolacja pęcherzyków błony zewnętrznej (OMVs) endofitycznych bakterii z rodzaju *Rhizobium***

**Katarzyna Kasperkiewicz**, *katarzyna.kasperkiewicz@us.edu.pl*, *Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach*

**Iryna Bodnaruk**, *ira.bodnaruk16@gmail.com*, *Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach*

**Małgorzata Pawlik**, *malgorzata.pawlik@us.edu.pl*, *Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach*

Bakterie endofityczne należą do grupy mikroorganizmów stale bytujących w tkankach roślin, nie powodując przy tym objawów chorobowych. Drobnoustroje te mogą stymulować wzrost roślin, wpływają na lepszą kondycję swojego gospodarza, ograniczają ryzyko infekcji fitopatogenami, mogą też redukować skutki stresu biotycznego i abiotycznego. Endofityczną mikroflorę roślin stanowią zarówno bakterie Gram-ujemne jak i Gram-dodatnie. Bakterie Gram-ujemne wykazują zdolność wytwarzania pęcherzyków błony zewnętrznej (OMVs), których rola polega m.in. na ochronie komórki bakteryjnej w sytuacji stresu środowiskowego. W badaniach podjęto próbę odpowiedzi na pytanie: czy bakterie endofityczne z rodzaju *Rhizobium* wydzielają pęcherzyki błony zewnętrznej (OMVs). W badaniach wykazano zdolność bakterii endofitycznych do produkcji tych struktur. Dokonano wstępnej charakterystyki OMVs pod względem ich ilości i rozmiarów. Dalsze badania zmierzać będą do poznania budowy i roli OMVs wydzielanych przez endofityczne bakterie z rodzaju *Rhizobium*.

## **Isolation of outer membrane vesicles (OMVs) produced by endophytic bacteria from the genus *Rhizobium***

Endophytic bacteria are microorganisms that colonize the internal plant tissues without causing any type of harm to their host. These microorganisms can promote plant growth and confer beneficial effects to the plant. They also protect plants against phytopathogens and reduce biotic and abiotic stress. The diversity of endophytic microflora ranges from Gram-negative to Gram-positive bacteria. Gram-negative bacteria are reported to produce outer membrane vesicles (OMVs), which play an important role in protection of microorganisms during the stress conditions. The aim of our research was to determine whether endophytic bacteria from the genus *Rhizobium* produce outer membrane vesicles (OMVs). Results show that analyzed endophytic species are able to release these nanosized structures. Furthermore, the amount and sizes of outer membrane vesicles have been measured. The role of OMVs produced by endophytic bacteria from the genus *Rhizobium* and characteristic of their structure will be the scope of future research.

## Ocena jakości mikrobiologicznej ekstraktów z owoców aronii i bzu czarnego

**Barbara Pliszka**, *barbara.pliszka@uwm.edu.pl*, Katedra Chemii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, *www.wksir.uwm.edu.pl*

Owoce aronii i czarnego bzu są źródłem polifenoli o właściwościach antyoksydacyjnych i przeciwbakteryjnych. Mają zastosowanie w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym. Celem pracy było określenie jakości mikrobiologicznej ekstraktów z owoców aronii i bzu czarnego. Do ekstrakcji użyto kwasu cytrynowego. Diagnostykę bakterii określono na podstawie: morfologii kolonii i komórek, zabarwienia metodą Grama i zdolności do tworzenia przetrwalników. Rodzaj pleśni zdiagnozowano na podstawie makroskopowej obserwacji morfologii kolonii, zabarwienia grzybni, tworzenia chlamydospor, budowy strzępeków owoconośnych, kształtu i barwy zarodników. Diagnostykę drożdży wykonano na podstawie cech morfologicznych komórek, sposobów rozmnażania wegetatywnego, zdolności tworzenia worków z zarodnikami i pseudogrzybni. Posiewy bezpośrednie i po inkubacji ekstraktów nie wykazały obecności bakterii *Bacillus* sp. Można przypuszczać, że ekstrakty z badanych owoców działały hamująco na rozwój bakterii. W posiewach bezpośrednich, w ekstraktach z aronii stwierdzono pleśnie *Aspergillus* sp. i *Mucor* sp. (tj. <math>1 \text{ jtk}/1 \text{ cm}^3</math>) a w ekstraktach z bzu czarnego *Aspergillus* sp. i *Mucor* sp. oraz drożdże *Saccharomyces* sp. (tj. <math>24 \text{ jtk}/1 \text{ cm}^3</math>). W posiewach po inkubacji, w ekstraktach z aronii rozwinęły się drożdże *Trichosporon* sp., a w ekstraktach z czarnego bzu *Saccharomyces* sp. W ekstraktach z owoców stwierdzono pleśnie *Penicillium* sp. Stopień zanieczyszczenia ekstraktów z owoców był mały, co mogło wynikać z właściwości ekstraktów i kwasu cytrynowego.

## **Evaluation of microbiological quality of chokeberry and elderberry fruit extracts**

Chokeberries and elderberries are source of polyphenolic compounds, which possess antioxidant and antibacterial properties. They are used in the food and pharmaceutical industries. The aim of the study was to determine the microbiological quality of extracts of chokeberries and elderberries. Citric acid was used for the extraction. Detection of bacteria was accomplished based on: the morphology of colonies and cells, staining by the Gram method and ability to form endospores. The type of mould was identified by microscopic observation of the morphology of colonies, coloration of mycelia, formation of chlamydo spores, structure of conidiophores, shape and colour of spores. Detection of yeast was performed according to the morphological traits of cells, type of multiplication, ability to form sacs with spores and pseudomycelia. *Bacillus* sp. were not detected in fresh and incubated extracts. It can be hypothesized that the extracts from the analysed fruit species inhibited the development of the bacteria. In fresh extracts of chokeberry were found the mould *Mucor* sp. and *Aspergillus* sp. (<1 CFU cm<sup>-3</sup>) but in extracts of elderberry *Mucor* sp. and *Aspergillus* sp. and yeast *Saccharomyces* sp. (24 CFU cm<sup>-3</sup>). Yeast *Trichosporon* sp. developed in extracts of chokeberry and *Saccharomyces* sp. in extracts of elderberry. Fruit extracts were found mould *Penicillium* Sp. The degree of contamination of fruit extracts was low, which may have been due to the properties of extracts and citric acid.



## **Określenie parametrów aklimacji *Chlorella vulgaris* do podwyższonych stężeń odcieków i odpadowego CO<sub>2</sub>**

**Agata Pszczółkowska**, *agatapszczolkowska8@gmail.com*, Katedra Ekofizjologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, *www.biol.uni.lodz.pl*

**Zdzisława Romanowska-Duda**, *romano@biol.uni.lodz.pl*, Katedra Ekofizjologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, *www.biol.uni.lodz.pl*

**Wiktor Pszczółkowski**, *wiktorpszczolkowski@gmail.com*, Katedra Ekofizjologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, *www.biol.uni.lodz.pl*

**Marcin Debowski**, *marcin.debowski@uwm.edu.pl*, Katedra Inżynierii Środowiska, Uniwersytet Warmieńsko-Mazurski w Olsztynie, *www.uwm.edu.pl*

**Marcin Zielinski**, *marcin.zielinski@uwm.edu.pl*, Katedra Inżynierii Środowiska, Uniwersytet Warmieńsko-Mazurski w Olsztynie, *www.uwm.edu.pl*

Na świecie prowadzone są intensywne prace nad rozwojem technologii produkcji biomasy jednokomórkowych glonów na skalę przemysłową. Opracowuje się sposoby na obniżenie kosztów produkcji glonów m. in. poprzez wykorzystanie odpadów z biogazowni jako źródła składników niezbędnych do masowej produkcji tej istotnej dla energetyki biomasy.

Celem badań było określenie możliwości intensyfikacji uprawy *Chlorella vulgaris* na odpadzie po fermentacji metanowej z biogazowni w Piaszynie poprzez suplementację CO<sub>2</sub>.

Uprawę prowadzono w temperaturze 26±1°C z zastosowaniem fotoperiodu 16 h światło/8 h ciemność na wytrząsarce orbitalnej. CO<sub>2</sub> dozowano do naczyń hodowlanych w czasie fazy jasnej fotoperiodu.

Zastosowano podłoża przygotowane z odcieku po fermentacji metanowej rozcieńczonego wodą do stężenia 5%, 15% i 20%.

Wigor kultur oraz ich rozwój monitorowano poprzez pomiar gęstości optycznej i fluorescencję chlorofilu a. Kondycję kultur oraz potencjał aktywności fotosyntetycznej określano poprzez analizę krzywej indukcji OJIP.

Wydajność uprawy oceniano na zakończenie doświadczenia na podstawie ilości wyprodukowanej suchej masy. Stężenie odpadu miało wpływ na zdolność asymilacji CO<sub>2</sub> przez *C. vulgaris*. Zastosowanie podłoża z 5% zawartością odcieku oraz suplementacji CO<sub>2</sub> skutkowało wyższą wydajnością produkcji niż zastosowanie tylko zdefiniowanego podłoża mineralnego. W niniejszej pracy zaproponowano wykorzystanie odpadów poprodukcyjnych z biogazowni jako taniego surowca do produkcji podłoża hodowlanych do uprawy mikroglonów.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju: BIOSTRATEG 2, Grant nr. 2/296369/5/NCBR/2016.

## **Determination of acclimation parameters of *Chlorella vulgaris* to increased concentrations of leachate and waste CO<sub>2</sub>**

Intensive research on the development of industrial scale biomass production of unicellular algae is carried out worldwide. Methods for reducing algae production costs are being developed through the use of waste from biogas plants as a source of nutrients necessary for the mass production of this biomass source substantial for Energy industry.

The aim of the study was to determine the possibility of intensifying cultivation of *Chlorella vulgaris* on waste after methane fermentation from a biogas plant in Piaszczyzna through supplementation of CO<sub>2</sub>.

*Chlorella vulgaris* was cultured on an orbital shaker at the temperature of 26 ± 1°C using a photoperiod of 16 h light/8 h darkness. CO<sub>2</sub> was dispensed into the culture vessels during the light phase of photoperiod. Growth media were prepared from the waste by dilution with water to concentrations of 5%, 15% and 20%. The vigor of cultures and their development were monitored by measuring the optical density and chlorophyll a fluorescence. The condition of the cultures and the potential of photosynthetic activity were determined by the analysis of the OJIP

induction curve. The yield of the crop was evaluated at the end of the experiment on the basis of the amount of dry matter. The concentration of waste had an effect on the *C. vulgaris* ability to assimilate CO<sub>2</sub>.

Production efficiency was higher on the medium containing 5% waste concentration and supplemented with CO<sub>2</sub> than on a defined mineral medium alone.

Research were supported by National Centre for Research and Development Grant No. BIOSTRATEG 2/296369/5/NCBR/2016.

## **Potencjał immunostymulujący $\beta$ -glukanu względem komórek linii monocytarno – makrofagowej THPX1BLUE™**

**Martyna Mucha**, [martyna.mucha.mikro@gmail.com](mailto:martyna.mucha.mikro@gmail.com), Studentka I roku II° Kierunku Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Łódź, [www.biol.uni.lodz.pl](http://www.biol.uni.lodz.pl)

**Agata Pyrzanowska**, [agata.pyrzanowska@wp.pl](mailto:agata.pyrzanowska@wp.pl), Studentka I roku II° Kierunku Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Łódź, [www.biol.uni.lodz.pl](http://www.biol.uni.lodz.pl)

**Karolina Rudnicka**, [karolina.rudnicka@biol.uni.lodz.pl](mailto:karolina.rudnicka@biol.uni.lodz.pl), Pracownia Gastroimmunologii, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Łódź, [www.biol.uni.lodz.pl](http://www.biol.uni.lodz.pl)

**Agnieszka Krupa**, [agnieszka.krupa@biol.uni.lodz.pl](mailto:agnieszka.krupa@biol.uni.lodz.pl), Pracownia Gastroimmunologii, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Łódź, [www.biol.uni.lodz.pl](http://www.biol.uni.lodz.pl)

**Marcin Włodarczyk**, [marcin.wlodarczyk@biol.uni.lodz.pl](mailto:marcin.wlodarczyk@biol.uni.lodz.pl), Zakład Immunologii Komórkowej, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Łódź, [www.biol.uni.lodz.pl](http://www.biol.uni.lodz.pl)

**Magdalena Mikołajczyk-Chmiela**, [magdalena.chmiela@biol.uni.lodz.pl](mailto:magdalena.chmiela@biol.uni.lodz.pl), Pracownia Gastroimmunologii, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Łódź, [www.biol.uni.lodz.pl](http://www.biol.uni.lodz.pl)

$\beta$ -glukan to polisacharyd izolowany ze ścian komórkowych grzybów i roślin o właściwościach immunostymulujących, których mechanizm nie został dobrze poznany.

Ocena potencjału immunostymulującego  $\beta$ -glukanu względem linii THP1XBlue™. Weryfikacja bezpieczeństwa substancji w modelu in vitro wobec fibroblastów mysich linii L929 w teście cytotoksyczności.

Cytotoksyczność oceniano zgodnie z normą ISO 10933-5-2005 względem fibroblastów mysich L929 po 24h inkubacji z  $\beta$ -glukanem (1000-0,015  $\mu\text{g/ml}$ ).

W celu zaobserwowania ewentualnych zmian morfologicznych komórki utrwalano i wybarwiano znacznikami fluorescencyjnymi. Potencjał immunostymulujący  $\beta$ -glukanu zbadano wobec monocytów linii THP1XBlue™. Pobudzenie czynnika jądrowego NF- $\kappa$ B takich komórek objawia się wydzielaniem fosfatazy alkalicznej do środowiska wzrostu, a stężenie enzymu wykrywane kolorymetrycznie jest wprost proporcjonalne do poziomu aktywacji komórek.

Wykazano, że  $\beta$ -glukan izolowany z *Saccharomyces cerevisiae* w zakresie stężeń 1000-250  $\mu$ g/ml pobudza monocyty na drodze aktywacji czynnika jądrowego NF- $\kappa$ B oraz, że w badanym zakresie stężeń nie jest cytotoksyczny, co potwierdzają wyniki uzyskane w teście redukcji MTT oraz prawidłowa morfologia komórek obserwowanych w mikroskopie konfokalnym. W kolejnym etapie badań zamierzamy zbadać czy  $\beta$ -glukan wpływa na funkcje efektorowe takich komórek tj. fagocytozę, wybuch tlenowy.

Badanie zostało zrealizowane w ramach pracowni specjalistycznej: „Zastosowanie zaawansowanych technik mikroskopii świetlnej i konfokalnej w badaniach bezpieczeństwa nowych substancji bioaktywnych”.

## **Immunostimulatory potential of $\beta$ -glucan towards the monocyte – macrophage cell line THP1BLUE™**

$\beta$ -glucan is a polysaccharide isolated from the all walls of fungi and plants and exhibit immunostimulatory properties. The mechanism of immunostimulation mediated by  $\beta$ -glucans is not well understood.

Evaluation of the immunostimulatory potential of  $\beta$ -glucan and identification of activation pathway evaluated on THP1XBlue™ cells in vitro model. Verification of cytotoxicity bio assay safety in the in vitro model of mouse L929 fibroblasts in the MTT reduction.

Cytotoxicity was assessed in accordance with ISO 10933-5-2005 towards mouse fibroblasts after 24h incubation with  $\beta$ -glucan (1000-0.015  $\mu$ g/ml). In order to observe possible morphological changes, the cells were fixed and stained with fluorescent dyes. The immunostimulatory potential of  $\beta$ -glucan was examined towards THP1XBlue™ monocytes. The stimulation of the nuclear factor NF- $\kappa$ B of these cells is manifested by the releasing of alkaline phosphatase to the growth medium. The concentration of the enzyme detected colorimetrically is directly proportional to the cell activation.

It has been shown that  $\beta$ -glucan isolated from *Saccharomyces cerevisiae* at concentrations of 1000-250  $\mu$ g/ml stimulates monocytes by activating the NF- $\kappa$ B nuclear factor and is not cytotoxic, which is confirmed by results obtained in MTT reduction test and proper cell morphology observed in confocal microscopy. In the next stage of the research, we plan to investigate that  $\beta$ -glucan affects the effector functions of these cells such as phagocytosis and reactive oxygen species production.

The study was carried out as part of a workshop: „The use of advanced light and confocal microscopy in studies of safety new bioactive substances”.

## Produkcja enancjomerów kwasu mlekowego przez bakterie

**Martyna Stefaniak**, stefaniakmartyna95@gmail.com, Katedra Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska, www.ch.pw.edu.pl

**Julia Dreksler**, julia.dreksler@gmail.com, Katedra Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska, www.ch.pw.edu.pl

**Joanna Żylińska-Urban**, jzylinska@ch.pw.edu.pl, Katedra Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska, www.ch.pw.edu.pl

**Joanna Cieśla**, jciesla@ch.pw.edu.pl, Katedra Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska, www.ch.pw.edu.pl

Jednym z ważnych zastosowań kwasu mlekowego (LA) jest synteza biodegradowalnego polimeru – polilaktydu. Właściwości fizyczne tego biopolimeru zależą od stosunku enancjomerów L- i D-LA. W wyniku syntezy chemicznej kwasu mlekowego uzyskuje się racemat, natomiast produkcja z udziałem mikroorganizmów pozwala na otrzymanie czystych optycznie form tego związku. Z rozmaitych źródeł naturalnych (produktów mlecznych, kiszzonek) wyizolowano 28 szczepów bakterii kwasu mlekowego (LAB). Scharakteryzowano je pod kątem fermentacji różnych źródeł węgla (testy API 50 CHL) oraz obecności enzymów (API ZYM). Oznaczono także produkcję enancjomerów LA podczas hodowli bakterii, za pomocą metody enzymatycznej. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że 15 szczepów produkowało racemat, a trzy – kwas L-mlekowy o czystości optycznej 90,5-95,7%. Zoptymalizowano hodowlę wybranych 4 szczepów LAB na podłożu płynnym w różnych temperaturach. Okazało się, że szczep 1 w temperaturze 30°C produkował w ok. 80% kwas D-mlekowy. Niektóre z uzyskanych szczepów LAB mogą znaleźć zastosowania w aplikacjach przemysłowych. W dalszej perspektywie wskazana jest optymalizacja parametrów hodowli w celu uzyskania wyższej produktywności LA oraz zbadanie możliwości wykorzystania surowców odnawialnych jako źródeł węgla.

## **Production of lactic acid enantiomers in bacteria**

One of the important applications of lactic acid (LA) is the synthesis of a biodegradable polymer – polylactide. The physical properties of this biopolymer depend on the ratio of L- and D-LA enantiomers. As a result of chemical synthesis of lactic acid, a racemate is obtained, whereas production in microorganisms allows to obtain optically pure forms of this compound. From a variety of natural sources (dairy products, silage), 28 strains of lactic acid bacteria (LAB) were isolated. They have been characterized for the fermentation of various carbon sources (API 50 CHL tests) and the presence of enzymes (API ZYM). The production of LA enantiomers was also determined during bacterial cultivation using the enzymatic method. Experiments have shown that 15 strains produced the racemate, and three – L-lactic acid with an optical purity of 90.5-95.7%. The temperature of cultivation of selected 4 LAB strains in a liquid medium was optimized and it turned out that strain 1 at 30°C produced about 80% of D-lactic acid. Some of the obtained LAB strains may be potentially used in industrial applications. In the longer term, it is advisable to optimize the breeding parameters in order to achieve higher LA productivity and to explore the possibility of using renewable raw materials as carbon sources.



## **Rola bakteryjnych pęcherzyków błonowych w oddziaływaniu gospodarz – patogen**

**Iryna Bodnaruk**, *ira.bodnaruk16@gmail.com, Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach, <http://www.wbios.us.edu.pl>*

**Katarzyna Kasperkiewicz**, *katarzyna.kasperkiewicz@us.edu.pl, Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach, <http://www.wbios.us.edu.pl>*

Wszystkie bakterie uwalniają do środowiska ze swojej powierzchni małe pęcherzyki błonowe, których rola nie jest do końca poznana. Przypuszcza się, że ich uwalnianie może służyć bakteriom do „powiadomienia” organizmu gospodarza i innych drobnoustrojów o swojej obecności. Pęcherzyki mogą być sposobem pozbywania się substancji dla komórki niepotrzebnych. Pęcherzyki błonowe mogą przenosić różne składniki przestrzeni peryplazmatycznej, enzymy, kwasy nukleinowe. Ponadto, bakterie mogą do nich pakować tzw. czynniki wirulencji, czyli substancje, przy pomocy których bakteria walczy z układem odpornościowym organizmu gospodarza i może w nim przetrwać i namnażać się. Pęcherzyki wypełnione takim czynnikiem mogą docierać do miejsc, gdzie bakterie dostają się z trudnością. Organizm gospodarza, rozpoznający je jako obce, zaczyna się bronić tworząc przeciwciała. W przeciwieństwie do bakterii, pęcherzyki nie mogą się namnażać i z tego względu mogą być wykorzystane jak jako szczepionki. Bakterie wydzielają pęcherzyki w sposób ciągły, ale w sytuacjach stresowych (np. pod wpływem antybiotyków) ich sekrecja może być zaburzona.

## **The role of membrane vesicles in host – pathogen interaction**

All known bacteria release small vesicles to the environment. Their role is not well understood, but it is believed that they communicate with the host and other microbes of their presence. Vesicles can be a manner to get rid of substances unnecessary or even harmful for cells. Membrane vesicles can carry different periplasmic components, enzymes or nucleic acids. In addition, bacteria can pack into them so-called virulence factors, substances that help the bacteria fight with the host's defense system as well as survive and multiply therein. Vesicles filled with such agents can reach places where the bacteria enter with difficulty. The host's organism recognizing them as foreign, begins to defend by production of specific antibodies. In contrast to bacteria, bubbles cannot multiply and therefore can be used as vaccines. Bacteria produce vesicles continuously, but in stressful situations (e.g. under the action of antibiotics) their secretion may be disturbed (intensified or inhibited).

## **Sylimaryna, popularny suplement diety wykazuje aktywność przeciwgrzybiczną wobec *Candida* spp.**

**Monika Janeczko**, *mjanec@kul.pl*, Katedra Biologii Molekularnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, *www.kul.pl*

Sylimaryna jest suplementem diety pozyskiwanym z *Silybum marianum* (ostropestu plamistego), powszechnie stosowanym do ochrony i leczenia wątroby. Celem badania było zweryfikowanie potencjalnych korzyści zdrowotnych sylimaryny jako leku przeciwgrzybicznego.

Do testów wykorzystano pięć referencyjnych gatunków *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* i *C. parapsilosis*). Na podstawie minimalnych stężeń hamujących (MIC) udowodniono, że sylimaryna hamowała wzrost wszystkich testowanych szczepów referencyjnych (MIC w zakresie 30-300 µg/ml). Ponadto potwierdzono skuteczność sylimaryny wobec 100 klinicznych izolatów *C. albicans* pozyskanych od pacjentek ginekologicznych (77 wrażliwych szczepów z MIC w zakresie 30-1200 µg/ml). Wykorzystując metodę szachownicy zbadano wpływ sylimaryny na aktywność antybiotyków: amfoterycyny B, kaspofunginy i flukonazolu wobec szczepów referencyjnych. Interakcja między lekami została określona w odniesieniu do wskaźnika frakcyjnego stężenia hamującego (FICI). W kombinacji sylimaryny z antybiotykami nie potwierdzono żadnych reakcji antagonistycznych. W przypadku *C. krusei* połączenia amfoterycyna B/sylimaryna i kaspofunginy/sylimaryna wykazały efekt synergistyczny. Ponadto substancja ta posiada właściwości przeciwwirulencyjne, ponieważ powodowała destabilizację dojrzałego biofilmu i hamowanie wydzielania hydrolaz przez *C. albicans*.

Uzyskane wyniki wskazują na zupełnie nowe zalety suplementacji diety tym naturalnym ekstraktem roślinnym.

## **Silymarin, a popular dietary supplement shows anti-Candida activity**

Silymarin is a dietary supplement obtained from *Silybum marianum* (milk thistle), commonly used to protect and treatment of the liver diseases. The aim of the study was verifying the potential health benefits of silymarin as an antifungal drug.

For tests were used five reference *Candida* species (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* and *C. parapsilosis*). Based on the minimum inhibitory concentrations (MIC) it was proved that silymarin inhibited the growth of all tested reference strains (MIC in the range of 30-300 µg /ml). In addition, the efficacy of silymarin was confirmed against 100 clinical isolates of *C. albicans* obtained from gynecological patients (77 susceptible strains with MIC in the range of 30-1200 µg / ml). Using the Checkerboard microdilution method, the effect of silymarin on the activity of antibiotics: amphotericin B, caspofungin and fluconazole against reference strains was investigated. Antifungal interactions were determined referring to the Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI). No antagonist reactions were confirmed in the combination of silymarin with antibiotics. In the case of *C. krusei*, the combination of amphotericin B / silymarin and caspofungin / silymarin showed synergistic effects. In addition, the substance has anti-virulence properties because it destabilized the mature biofilm and inhibited the secretion of hydrolases by *C. albicans* cells. The obtained results indicate completely new advantages of diet supplementation with this natural plant extract.

## **W3BUL – mutant *Euglena gracilis*, jako model ewolucji redukcyjnej chloroplastu**

**Aleksandra Bokus**, [aleksandra.bokus@student.uw.edu.pl](mailto:aleksandra.bokus@student.uw.edu.pl), Zakład Filogenetyki Molekularnej i Ewolucji, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, [www.biol.uw.edu.pl](http://www.biol.uw.edu.pl)

**Kacper Maciszewski**, [macisz@biol.uw.edu.pl](mailto:macisz@biol.uw.edu.pl), Zakład Filogenetyki Molekularnej i Ewolucji, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, [www.biol.uw.edu.pl](http://www.biol.uw.edu.pl)

**Anna Karnkowska**, [ankarn@biol.uw.edu.pl](mailto:ankarn@biol.uw.edu.pl), Zakład Filogenetyki Molekularnej i Ewolucji, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, [www.biol.uw.edu.pl](http://www.biol.uw.edu.pl)

Eugleniny są jednokomórkowymi glonami, które pozyskały chloroplasty na drodze wtórnej endosymbiozy. Niektóre gatunki wtórnie utraciły zdolność przeprowadzania fotosyntezy, jednak utrzymują pozostałości plastydu wraz z genomem organellarnym. Celem realizowanego projektu było zbadanie ewolucji redukcyjnej plastydu niezdolnego do fotosyntezy mutantu *Euglena gracilis* – W3BUL.

Uzyskano produkty PCR dla trzech genów kodowanych plastydowo, w tym sekwencję 16S rDNA identyczną z sekwencją dzikiego szczepu. Następnie, zsekwencjonowano i złożono całościowe genomowe DNA. Pomimo uzyskania genomu mitochondrialnego o pokryciu 400x, nie wykryto genomu plastydowego, mimo iż zazwyczaj pokrycie tych genomów jest porównywalne. Znaleziono jedynie fragmenty genów plastydowych o pokryciu 4x, otoczone niekodującym DNA. Porównanie ich do genomu jądrowego dzikiego szczepu wykazało, że fragmenty te są sekwencjami plastydowymi kodowanymi jądrowo.

Zebrane wyniki sugerują utratę genomu plastydowego. Jednak wcześniejsze badania, z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej, wykazały że szczep W3BUL posiada struktury podobne do chloroplastu. Dlatego przeszukano złożony genom w poszukiwaniu genów białek chloroplastowych kodowanych jądrowo. Zidentyfikowano 36 białek z sygnałem lokalizacji sugerującym kierowanie ich do plastydu. Aby potwierdzić czy następuje ekspresja genów kodujących białka kierowanych do plastydu oraz wyjaśnić funkcję struktur podobnych do plastydu sekwencjonowany jest transkryptom.

## **Euglena gracilis W3BUL bleached strain as a model for reductive evolution of plastids**

Euglenids are unicellular algae, which obtained chloroplasts via secondary endosymbiosis. Some of them are secondarily heterotrophic, having lost their photosynthetic capability, but retained remnant plastids with autonomous genomes. The goal of this project was to investigate the reductive evolution of plastids in a bleached mutant *Euglena gracilis* W3BUL.

PCR products for three plastid genome-encoded genes were obtained, with the 16S rDNA sequence identical to the wild strain. Subsequently, total genomic DNA was sequenced and assembled into a draft genome. The mitochondrial genome (coverage 400x) was recovered, but no plastid genome was detected, although its coverage is usually comparable to the mitochondrial genome. Only fragments of plastid genes (coverage 4x), flanked by noncoding DNA, were found, and based on the comparison with the wild strain's nuclear genome, they were identified as nuclear plastid-derived sequences.

Our results suggest that the plastid genome was lost, but it has been previously shown with the electron microscope imaging that chloroplast-like structures are present in W3BUL strain. Therefore, the draft genome was scanned for nuclear-encoded, plastid-targeted proteins. 36 protein candidates with localization signal have been identified, suggesting targeting to the remnant organelle. To confirm that the genes encoding plastid-targeted proteins are expressed, and to elucidate the function of the remnant plastid, the transcriptome will be sequenced.

## **Wpływ syntetycznych pochodnych 1,4-naftochinonów na ekspresję wybranych genów związanych z wirulencją *C. albicans***

**Elżbieta Kochanowicz**, *mazure@kul.lublin.pl*, *Katolicki Uniwersytet Lubelski*

**Monika Janeczko**, *mjanec@kul.lublin.pl*, *Katolicki Uniwersytet Lubelski*

Naturalne 1,4-naftochinony (1,4-NQ) należą do pochodnych naftalenu i są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie. Wykazują przeciwmikrobiologiczne działanie wobec wielu gatunków bakterii i grzybów patogennych. Ich aktywność biologiczna wynika ze zdolności do produkcji reaktywnych form tlenu (ROS), właściwości alkilujących wobec wielu białek, interkalacji DNA oraz hamowania aktywności wielu enzymów.

W niniejszej pracy analizie poddano wpływ syntetycznych pochodnych naftochinonów: 2-(2,4-dimetoksyfenylo)naftaleno-1,4-dionu (1); 2-(2,4,6-trimetoksyfenylo)naftaleno-1,4-dionu (2) oraz N-[4-(1,4-dioakso-1,4-dihydronaftaleno-2-ylo)-3metoksyfenylo]acetamidu (3) na ekspresję genów związanych z wirulencją *Candida albicans* – HWP1, ECE1, SAP4, ALS1, ALS3.

Wcześniejsze badania wskazują na właściwości przeciwgrzybiczne badanych związków w stosunku do szczepu referencyjnego *C. albicans* w zakresie MIC 8-31 mg/l oraz wpływ na adhezję, wytwarzanie strzępek czy też tworzenie biofilmu.

Hodowle *C. albicans* prowadzono w obecności badanych związków o stężeniu  $\frac{1}{2}$  MIC, w warunkach indukujących strzępkowanie (obecność surowicy, pH 7, 37°C). Następnie przeprowadzono dwustopniowy qPCR z wykorzystaniem sond hybrydacyjnych typu TaqMan.

Uzyskane wyniki wskazują na znaczny wpływ badanych związków na ekspresję podanych powyżej genów: w przypadku związku nr 1 i 2 obserwowano zahamowanie ekspresji od 20% (SAP4, ALS1) do nawet 60% (ECE1), zaś w przypadku związku nr 3 spadek obserwowano tylko w przypadku ECE1. Uzyskane wyniki umożliwią nakreślenie celu molekularnego do dalszych badań nad skutecznością działania analizowanych związków.

## **The effect of synthetic derivatives of 1,4-naphthoquinones on the expression of selected genes involved in the virulence of *C. albicans***

Natural 1,4-naphthoquinones (1,4-NQ) belong to naphthalene derivatives and are widely distributed in nature. They show antimicrobial activity against many species of pathogenic bacteria and fungi. Their biological activity comes from the ability to produce reactive oxygen species (ROS), alkylating properties, intercalating DNA and inhibiting the activity of many enzymes.

In this work we present the effect of synthetic naphthoquinone derivatives: 2-(2,4-dimethoxyphenyl) naphthalene-1,4-dione (1); 2-(2,4,6-trimethoxyphenyl) naphthalene-1,4-dione (2) and N-[4-(1,4-dioxo-1,4-dihydronaphthalen-2-yl)-3-methoxyphenyl] acetamide (3) on the expression of genes involved in the virulence of *Candida albicans* – HWP1, ECE1, SAP4, ALS1, ALS3.

Previous studies indicated the antifungal properties of the analyzed compounds to the *C. albicans* reference strain in the MIC range of 8-31 mg/l and the influence on adhesion, hypha production or biofilm formation.

*C. albicans* cultures were carried out in the presence of tested compounds with a concentration of  $\frac{1}{2}$  MIC, under conditions inducing hyphal growth (presence of serum, pH 7, 37°C). In the next step, a two-stage qPCR was carried out using TaqMan hybridization probes.

The obtained results show a noticeable decrease in the level of relative gene expression in the case of compounds (1) and (2) on all analyzed genes in the range from 20% (SAP4, ALS1) to even 60% (ECE1). In the case of compound (3) decrease was observed only in ECE1 (25%). Further studies will focus on molecular targets that are connected with analyzed genes and their susceptibility to tested compounds.



## **Wytwarzanie pęcherzyków błonowych przez *N. gonorrhoeae* w różnych warunkach środowiskowych**

**Jagoda Płaczkiwicz**, *j.placzkiwicz@biol.uw.edu.pl*, Zakład Wirusologii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, [www.biol.uw.edu.pl](http://www.biol.uw.edu.pl)

**Agnieszka Kwiatek**, *akwiat@biol.uw.edu.pl*, Zakład Wirusologii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, [www.biol.uw.edu.pl](http://www.biol.uw.edu.pl)

Wstęp: Obligatoryjny patogen człowieka – *Neisseria gonorrhoeae* (gonokok), to gram-ujemna dwójka, będąca czynnikiem etiologicznym rzeżączki. *N. gonorrhoeae* infekuje przede wszystkim błony śluzowe żeńskiego oraz męskiego układu moczowo-płciowego. Kluczowym procesem warunkującym skuteczną infekcję bakteryjną jest dostarczenie czynników wirulencji do środowiska, bądź bezpośrednio do komórek gospodarza. W tym celu wiele bakterii patogennych produkuje pęcherzyki błonowe, które poza istotną funkcją w patogenezie, pełnią również rolę w odpowiedzi na stres środowiskowy.

Cel: Celem niniejszej pracy było poznanie wpływu czynników środowiskowych na produkcję pęcherzyków błonowych przez *N. gonorrhoeae*.

Metody: Pęcherzyki błonowe *N. gonorrhoeae* MS11 izolowane były w późnej fazie logarytmicznej wzrostu bakterii, w różnych warunkach środowiskowych. Następnie określano ilość pęcherzyków błonowych z wykorzystaniem pomiaru zawartości białek i lipidów oraz wizualizowano je z wykorzystaniem elektronowej mikroskopii transmisyjnej.

Wyniki: Podwyższone stężenie nadtlenu wodoru oraz jonów żelaza, jako stresowych warunków środowiskowych prowadzi do wzrostu produkcji pęcherzyków błonowych przez *N. gonorrhoeae*, jednakże nie wpływa na ich morfologię. Wnioski: Pęcherzyki błonowe *N. gonorrhoeae* poza istotną rolą w patogenezie, uczestniczą również w odpowiedzi na warunki stresowe występujące w środowisku charakterystycznym dla *N. gonorrhoeae*.

## **Production of outer membrane vesicles by *Neisseria gonorrhoeae* in different environmental conditions**

Introduction: *Neisseria gonorrhoea* (gonococcus), is a gram-negative bacteria, a diplococcus, an obligate human pathogen and etiological agent of gonorrhea. The gonococcus infects a diverse array of human mucosal surfaces, however the most frequent initial sites of infections are related to genitourinary tract in men and women. Delivery of bacterial virulence factors to environment or directly to host cells is a crucial mechanism for effective pathogenic infection. One of the strategies that is used in this purpose by many pathogenic gram-negative bacteria is production and release of outer membrane vesicles (OMVs), that beside their function in pathogenesis, play also important role in stress response to environmental conditions.

Aim: Aim of this study was to understand the impact of environmental conditions on production of OMVs by *N. gonorrhoeae*. Methods: OMVs was isolated from *N. gonorrhoeae* MS11 in late logarithmic phase in different environmental conditions. Then amount of obtained vesicles was measured by quantification of protein and lipid content and their visualization was performed using transmission electron microscopy.

Results: Presence of high concentration of hydrogen peroxide and iron ions increase production of OMVs by *N. gonorrhoeae*, however has no impact on morphology of released vesicles.

Conclusions: *N. gonorrhoeae* OMVs besides their role in pathogenesis are also involved in response to stressful conditions, which are common in site of infection.

## Zróżnicowanie wrażliwości środowiskowych szczepów *Malassezia pachydermatis* na azole

**Ewa Grabowska**, ewagrabowska5@o2.pl, magistrantka, Zakład Cytobiochemii, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, www.uwb.edu.pl

**Magdalena Siemieniuk**, m.siemieniuk@uwb.edu.pl, Zakład Cytobiochemii, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, www.uwb.edu.pl

**Ewelina Kachnowska**, kachnaaa.e@gmail.com, magistrantka, Zakład Cytobiochemii, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, www.uwb.edu.pl

**Urszula Czyżewska**, urszula.czyzewska@uwb.edu.pl, Zakład Cytobiochemii, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, www.uwb.edu.pl

**Aneta Zambrzycka**, a.zambrzycka@uwb.edu.pl, Zakład Cytobiochemii, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, www.uwb.edu.pl

**Adam Tylicki**, atyl@uwb.edu.pl, Zakład Cytobiochemii, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, www.uwb.edu.pl

Zwiększająca się lekooporność u mikroorganizmów dotyczy również grzybów z rodzaju *Malassezia*. Celem niniejszej pracy była ocena wrażliwości 44 szczepów *Malassezia pachydermatis* pochodzących od psów zdrowych i chorych na zapalenie ucha, na najczęściej stosowane leki przeciwgrzybiczne z grupy azoli (ketokonazol, klotrimazol). Oceny wrażliwości szczepów na testowane leki dokonano na podstawie wartości MIC i MFC. Zarówno średnie wartości MIC, jak i MFC dla ketokonazolu wynosiły 0,15 µg/ml, natomiast dla klotrimazolu odpowiednio 73 i 115 µg/ml. Większe zróżnicowanie MFC zanotowano w odpowiedzi na klotrimazol (20-328 µg/ml) w porównaniu z ketokonazolem (0,04-0,3 µg/ml). Średnie wartości MIC i MFC w przypadku obu antymikotyków były porównywalne w obu grupach szczepów. W przypadku klotrimazolu podwyższoną tolerancję na ten antymikotyk miały szczepy pochodzące od psów chorych w porównaniu ze szczepami wyizolowanymi od psów zdrowych (odpowiednio MIC<sub>50</sub> = 82 oraz 41 µg/ml). Przeciwnie w przypadku

ketokonazolu podwyższoną tolerancję zaobserwowano u szczepów pochodzących od psów zdrowych (2-krotnie wyższa wartość MIC<sub>90</sub>).

W związku z wyższą tolerancją na ketokonazol, szczepy pochodzące od psów zdrowych mogą stanowić rezerwuar lekoopornych genotypów na ten antymikotyku. W przypadku klotrimazolu odnotowano selekcję, która może wynikać ze stosowania azoli w leczeniu grzybic u psów.

### **Differentiation of susceptibility of *Malassezia pachydermatis* field strains to azoles**

Increasing drug resistance of microorganisms also applies yeast from genus *Malassezia*. The aim of this study was to evaluate the sensitivity of 44 *Malassezia pachydermatis* strains received from dogs with and without otitis externa to commonly used azoles (ketoconazole, clotrimazole). The susceptibility of strains to antifungal drugs was verified using the MIC and MFC values. Ketoconazole showed higher activity against *M. pachydermatis* strains (MIC/MFC = 0.15 µg/ml) than clotrimazole (MIC = 73 µg/ml and MFC = 115 µg/ml). Higher diversity of MFCs was observed in response to clotrimazole (20-328 µg/ml) compared to ketoconazole (0.04-0.3 µg/ml). The mean values of MIC and MFC for both antimycotics were similar in both groups of strains. In the case of clotrimazole, the tolerance to this drug was higher in strains from dogs with otitis externa compared to the strains isolated from healthy dogs (respectively MIC<sub>50</sub> = 82 and 41 µg/ml). Contrary, in the case of ketoconazole, increased tolerance was observed in strains from healthy dogs (two times higher MIC<sub>90</sub> value).

Due to the higher tolerance to ketoconazole, strains from healthy dogs may be a source of drug-resistant genotypes for this antimycotic. For clotrimazole, treatment of fungal infections in dogs could be a selection factor contributing to the observed increase of resistance.

## Indeks

Bodnaruk I. ....	37, 49	Lechowicz E. ....	29
Bokus A. ....	53	Maciszewski K. ....	53
Cieśla J. ....	47	Malm A. ....	12
Cytryńska M. ....	21	Mikołajczyk-Chmiela M. ....	44
Czyżewska U. ....	59	Mołoń M. ....	19
Debowski M. ....	41	Mucha M. ....	44
Dreksler J. ....	47	Pawlik M. ....	37
Dziadek J. ....	29	Pliszka B. ....	39
Fordon M. ....	31	Płaczkiewicz J. ....	57
Frać M. ....	17	Płociński P. ....	29
Gałązka A. ....	17	Pszczółkowska A. ....	33, 41
Grabowska E. ....	59	Pszczółkowski W. ....	33, 41
Grygorczuk-Płaneta K. ....	21	Pyrzanowska A. ....	44
Grządziel J. ....	17	Romanowska-Duda Z. ....	33, 41
Hryniewicz K. ....	11	Rudnicka K. ....	44
Janeczko M. ....	51, 55	Siebielec G. ....	25, 35
Kachnowska E. ....	59	Siebielec S. ....	25, 35
Karnkowska A. ....	53	Siemieniuk M. ....	59
Kasperkiewicz K. ....	37, 49	Skrzypiec K. ....	21
Kochanowicz E. ....	55	Stefaniak M. ....	47
Krawczyk B. ....	31	Stępień K. ....	19
Krupa A. ....	44	Stępiński A. ....	33
Kwiatkiewicz A. ....	57	Tylicki A. ....	59

Urbaniak M. ....	25	Wysocka M. ....	31
Waligórska M. ....	23	Zambrzycka A. ....	59
Włodarczyk M. ....	44	Zielinski M. ....	41
Wojdyła D. ....	19	Żylińska-Urban J. ....	47
Woźniak M. ....	17		