

**I Ogólnopolska
Mikrobiologiczna Konferencja
Naukowa MICROBS**

Abstrakty

Lublin 2016

**I Ogólnopolska
Mikrobiologiczna Konferencja
Naukowa MICROBS**

Abstrakty

Redakcja:
Beata Zdunek
Kamil Maciąg

Lublin 2016

**I Ogólnopolska Mikrobiologiczna Konferencja
Naukowa MICROBS
12-13 maja 2016 roku, Dwikozy**

Abstrakty

Redakcja:
Beata Zdunek
Kamil Maciąg

Skład i łamanie:
Ilona Żuchowska

Projekt okładki:
Marcin Szklarczyk

© Copyright by Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ISBN 978-83-65272-37-9

Wydawca:
Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL
ul. Głowackiego 35/348, 20-060 Lublin
www.fundacja-tygiel.pl

Komitet Naukowy:

- Prof. dr hab. Wanda Małek
- Prof. dr hab. Anna Malm
- Prof. dr hab. Agnieszka Szuster-Ciesielska
- Prof. dr hab. Zofia Stępniewska
- dr hab. Małgorzata Łobocka
- dr hab. Henryk Krukowski
- dr Monika Jach

Komitet organizacyjny:

- Kamil Maciąg
- Beata Zdunek
- Monika Olszówka
- Krzysztof Bałękowski
- Justyna Sprawka
- Marcin Szklarczyk

Organizator:



Patroni:



**Uniwersytet Marii
Curie-Skłodowskiej
w Lublinie**



**Śląski Uniwersytet
Medyczny
w Katowicach**



Miasto Sandomierz



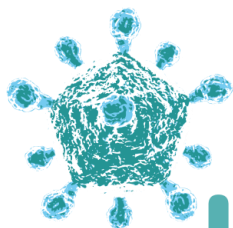
**Portal
Biotechnologia.pl**

Sponsorzy:

enbio



A&A BIOTECHNOLOGY



itm

INSTYTUT TECHNOLOGII
MIKROBIOLOGICZNYCH

Spis treści

Wystąpienia Gości

Bakterie do namnażania bakteriofagów terapeutycznych
– czy mają znaczenie? 13

Probiotyczne kosmetyki – nowy nurt w kosmetyce i kosmologii? 15

Wystąpienia Uczestników

Charakterystyka ogólnych i łatwoekstrahowalnych białek glebowych
spokrewnionych z glomalinami w zależności od systemu uprawy zbóż.... 19

Elektroforeza w gradiencie środka denaturującego (DGGE)
jako metoda badania zmian w bioróżnorodności glebowej 21

Heterologiczna ekspresja lakazy 23

Metaboliczne oraz genetyczne różnice pomiędzy szczepami drożdży
winnych, określone metodami spektroskopii w podczerwieni 25

Mikroflora włók jako alternatywny wskaźnik umożliwiający ustalenie
czasu zgonu 27

Możliwości zastosowania bakterii
z rodzaju *Azospirillum* w uprawie roślin 29

Ocena potencjału biotechnologicznego szczepów bakterii fermentacji
mlekowej izolowanych z różnych środowisk 31

Ocena wrażliwości na antybiotyki aminoglikozydowe
i ryfampicyne szczepów *Staphylococcus epidermidis*
tworzących i nietworzących biofilmu..... 33

Pożyteczna rola grzybów endofitycznych 36

Selekcja szczepów bakterii potencjalnie promujących
wzrost roślin jagodowych..... 38

System Biolog – narzędzie do identyfikacji
i charakterystyki mikroorganizmów środowiskowych 40

Wpływ oleju napędowego na liczebność bakterii ryzosferowych
Pseudomonas fluorescens..... 43

Postery naukowe

Aktywność biologiczna <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> wobec <i>Fusarium</i> spp. wyizolowanych z pędów szparaga (<i>Asparagus officinalis</i> L.)	47
Bioremediacja chlorofenoli glebowych	49
Charakterystyka bakterii brodawkowych i ich rola w obiegu azotu	51
Charakterystyka bakteriofagów specyficznych dla <i>Escherichia coli</i> izolowanych od drobiu i ocena ich właściwości litycznych	53
Charakterystyka białka opiekuńczego ClpB (Hsp100) pochodzącego z patogennej bakterii <i>Leptospira interrogans</i> , czynnika etiologicznego leptospirozy	56
Identyfikacja symbiontów bakteryjnych nicieni entomopatogennych <i>Steinernema</i> spp.	59
Mikrobiota drożdżowa fermentacji wybranych późnych odmian kapusty głowiastej białej (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> f. <i>alba</i>)	61
Ocena cytotoksyczności biogennych nanocząstek srebra na modelu komórkowym <i>in vitro</i>	63
Polimorfizm genomowy symbiontów <i>Lembotropis nigricans</i> metodami BOX-PCR, ERIC-PCR i AFLP	68
Porównanie jakości mikrobiologicznej i sensorycznej miodów wielokwiatowych pochodzących z Polski i Tajlandii	70
Porównanie skuteczności preparatów antyseptycznych na bazie kationowego środka antyseptycznego	72
Właściwości cytotoksyczne i immunomodulujące preparatu ecomer(r) zawierającego standaryzowany, oczyszczony olej z wątroby rekina grenlandzkiego	74
Wpływ probiotyku zawierającego <i>Enterococcus faecium</i> na status immunologiczny oraz obraz histologiczny i mikrobiologiczny jelita czczego kurcząt	77
Występowanie genu tonB wśród patogennych izolatów <i>Haemophilus influenzae</i> pobranych od pacjentów laryngologicznych	80
Znaczenie wybranych lizyn bakteriofagowych w leczeniu antybiotykoopornych zakażeń bakteryjnych	82

WYSTĄPIENIA GOŚCI

Bakterie do namnażania bakteriofagów terapeutycznych – czy mają znaczenie?

Dr hab. Małgorzata Łobocka, prof. nadzw. SGGW

Wzrost liczby przypadków lekooporności patogenów bakteryjnych dyktuje potrzebę poszukiwań środków antybakteryjnych alternatywnych dla antybiotyków. Należą do nich bakteriofagi – naturalne wirusy bakteryjne nieszkodliwe dla komórek eukariotycznych. Po namnożeniu w bakterii uwalniane są na zewnątrz powodując jej lizę. Lizaty są źródłem bakteriofagów stosowanych w terapii. Oprócz fagów terapeutycznych zawierają składniki uwolnione z bakterii. Analiza genomów bakterii do namnażania fagów ujawnia nie tylko geny kodujące toksyny, ale też ruchome elementy genetyczne: plazmidy, transpozony lub profagi. Obecność toksyn w lizatach zwiększa koszty oczyszczania preparatów. Obecność ruchomych elementów genetycznych grozi niekontrolowanym rozsiewem genów związanych z wirulencją lub antybiotykoopornością bakterii. Ze względu na olbrzymią różnorodność tych elementów nie ma uniwersalnych metod ich usuwania. Strategią z wyboru jest konstrukcja pozbawionych ich szczepów bakterii. Choć wiąże się to z wieloma trudnościami, coraz wyraźniej widać, że jest koniecznym etapem na drodze do powszechnego stosowania fagoterapii w praktyce rolniczej, medycznej i weterynaryjnej.

Bacteria for the propagation of therapeutic bacteriophages – do they matter?

The increase in number of drug resistance incidences among bacterial pathogens dictates a need to search for antibacterial agents that could be alternatives for antibiotics. Bacteriophages – natural bacterial viruses that are harmless to eukaryotic cells belong to such agents. After the propagation in a bacterium they are released causing its lysis. Lysates are a source of bacteriophages that are used in therapies. In addition to therapeutic phages they contain bacterial cell components. Analysis of genomes of bacterial strains that are used for phage propagation reveals not only genes that encode toxins, but also mobile genetic elements: plasmids, transposons and prophages. The presence of toxins in lysates increases the cost of lysate purification. The presence of mobile genetic elements pose a risk of uncontrolled spread of bacterial virulence or antibiotic-resistance genes. Due to a huge diversity of bacterial mobile genetic elements the universal methods of their removal do not exist. A strategy of choice is the construction of bacteria that are depleted of these elements. Despite its being associated with many difficulties, one can see more and more clearly, that it is a necessary step on a way to a common use of phage therapy in agricultural, medical and veterinary practice.

Probiotyczne kosmetyki – nowy nurt w kosmetyce i kosmetologii?

Prof. dr hab. n. farm. Anna Malm, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Terminem probiotyki określa się drobnoustroje naturalnej mikroflory człowieka, czyli mikrobiomu, wywołujące wielokierunkowe, korzystne efekty dla organizmu gospodarza, zarówno miejscowe jak i ogólnoustrojowe. Terminem tym określa się również preparaty zawierające ściśle zdefiniowane żywe drobnoustroje o właściwościach probiotycznych w odpowiedniej ilości, wpływające na mikroflorę organizmu człowieka i dzięki temu wywierające efekty zdrowotne.

Probiotyki dostępne są w postaci produktów leczniczych, suplementów diety oraz żywności funkcjonalnej. W ostatnich latach pojawiały się również produkty kosmetyczne oparte o drobnoustroje probiotyczne, ich lizaty oraz prebiotyki, czyli substancje stymulujące wybiórczo rozwój probiotyków. Kosmetyki te stanowią nowy nurt w kosmetyce i kosmetologii, a ich sprzedaż systematycznie rośnie.

Synergistyczne działanie probiotyków i prebiotyków obecnych w kosmetykach polega na: (I) tworzeniu na powierzchni skóry aktywnej bariery ochronnej poprzez rozwój prawidłowej mikroflory; (II) korzystnym działaniu na zachodzące w skórze procesy, w tym ograniczaniu procesu transepidermalnej utraty wody, co warunkuje odpowiednią wilgotność naskórka; (III) stymulacji odporności skóry oraz zwiększeniu jej niewrażliwości na zewnętrzne czynniki drażniące. Probiotyczne kosmetyki są przeznaczone zarówno do codziennej pielęgnacji skóry, jak również skóry z problemami dermatologicznymi, takimi jak trądzik, łuszczyca czy alergie.

Probiotic cosmetics – a new trend in cosmetics and cosmetology?

Probiotics are defined as microorganisms belonging to natural human microflora, so-called microbiome, which cause multidirectional, beneficial effects for host organism of local and systemic nature. Another definition establishes that probiotics are preparations containing living cells of strictly defined probiotic strains in adequate amounts, affecting microflora composition of human body, thereby causing beneficial effects.

Probiotics are available in the form of medicinal products, diet supplements or functional food. Recently, probiotic cosmetics have become available, containing probiotic microorganisms, their cell lysts and/or prebiotics, i.e. substances stimulating selectively the growth of probiotics. These cosmetics may be regarded as a new trend in cosmetics and cosmetology; their selling is increasing.

Synergistic activity of probiotics and prebiotics present in cosmetics products includes: (I) creation on the skin surface active, protective barrier due to natural microflora development; (II) beneficial effects on the processes happening within skin, therein regulation of transepidermal water loss responsible for appropriate humidity of epidermis; (III) stimulation of skin immune system and an increase of skin insensitivity on hazardous, environmental factors. Probiotic cosmetics are recommended for the daily skin care as well as for the care of skin with dermatologic problems such as acne, psoriasis or allergies.

WYSTĄPIENIA USTNE

Charakterystyka ogólnych i łatwoekstrahowalnych białek glebowych spokrewnionych z glomalinami w zależności od systemu uprawy zbóż

Anna Gałazka, agalazka@iung.pulawy.pl, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

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

Glomaliny to glikoproteiny wytwarzane przez grzyby endomykoryzowe (AM – mykoryza arbuskularna) zasiedlające korzenie roślin. Białka te, to glikoproteiny o bardzo unikalnych właściwościach fizyko-chemicznych, opłaszczające agregaty glebowe i utrzymujące je przed rozbiciem. Glomaliny są wyjątkowo odporne na degradację (obecne w glebie nawet od 10-30 lat), są trudno rozpuszczalne w wodzie, natomiast bardzo dobrze rozpuszczają się w wysokiej temperaturze (121°C; 250°F) w buforze cytrynianowym o neutralnym lub alkalicznym pH. Ich ekstrahowanie z gleby wymaga, nietypowej jak dla białek, prawie godzinnej sterylizacji. Z jednej strony takie właściwości czynią z glomalin bardzo stabilną molekułę będącą idealnym „płaszczem” do ochrony agregatów glebowych przed degradacją, a z drugiej strony stwarzają duże trudności w poznaniu i ustaleniu dokładnej budowy tej cząsteczki.

Celem niniejszej pracy było: przedstawienie w formie krótkiego zarysu dotychczasowych osiągnięć na temat charakterystyki glomalin w oparciu o literaturę światową dotyczącą tego zagadnienia oraz wykazanie obecności glomalin ogólnych i łatwoekstrahowalnych w glebach pochodzących z różnych systemów upraw pszenicy ozimej.

Próbki gleb pobrano spod dwóch odmian pszenicy ozimej odmiany Sukces (S) i odmiany Roma (R) uprawianych w trzech systemach: ekologicznym (E), integrowanym (I) i monokulturze (M) w Stacji Doświadczalnej IUNG w Osinach (woj. lubelskie). Poszczególne systemy charakteryzowały się odmiennym zmianowaniem oraz właściwymi dla danego systemu zabiegami agrotechnicznymi. W próbkach glebowych oznaczono zawartość glomalin oraz aktywność biologiczną gleb wyrażoną zarówno liczebnością drobnoustrojów glebowych jak i aktywnością enzymatyczną.

Przeprowadzone w niniejszej pracy badania wykazały, iż ilość wytwarzanych przez grzyby AM glomalin zależała m. in. od systemu uprawy gleby oraz nie korelowała z ogólną zawartością węgla ogólnego i próchnicy w glebie. System bezorkowy oraz ekologiczny znacznie podwyższał produkcję glomalin i ich występowanie w glebie w przeciwieństwie do tradycyjnego, konwencjonalnego systemu uprawy i monokultury.

Słowa kluczowe: gleba, systemy uprawy gleb, glomalina ogólna, łatwoekstrahowalna

Characteristics of glomalin and impact of different tillage systems on their content in the soil

Glomalins are glycoproteins produced by endomycorrhizae fungi, that surrounds soil aggregates and protects them from destroying. Glomalins are especially resistant to destruction, hard to dissolve in water, while very easy dissolve in high temperature (121°C; 250°F) in citrate buffer with neutral or alkali pH. Their extraction from the soil requires almost one hour of sterilization. These properties make glomalins very stable compounds that are perfect “jacket” for protection of soil aggregates against degradation, however they are also difficult to understand and determining their exact construction. The aim of the study was to demonstrate the presence of total and easy extractable glomalins in soils from different tillage systems of winter wheat. Soil samples were taken from winter wheat fields, variety Sukces (S) and variety Roma (R) in three different tillage systems: organic (E), integrated (I) and monoculture (M) in Experimental Station of IUNG-PIB in Osiny (lubelskie voivodship). Individual systems were kept in different crop rotation and different agricultural treatment appropriate for a given system. The taken soil samples were examined for total content of glomalins and biological activity, expressed in total number of soil microorganisms and enzymatic activity. It was demonstrated, that the amount of glomalins produced by endomycorrhizae fungi, depended on the tillage system and was not correlated with total carbon and organic matter in soil. In organic system of tillage, the production and content of glomalins were significantly higher than in integrated and monoculture systems.

Keywords: soil, tillage systems, total glomalin, easy extractable glomalin

Elektroforeza w gradiencie środka denaturującego (DGGE) jako metoda badania zmian w bioróżnorodności glebowej

Jarosław Grządziel, jgrzadziel@iung.pulawy.pl; Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, www.iung.pulawy.pl

Anna Gałązka, agalazka@iung.pulawy.pl; Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, www.iung.pulawy.pl

Gleba nazywana jest przez jednych naukowców największym organizmem na Ziemi, a przez innych najbardziej złożonym i skomplikowanym środowiskiem do życia niemal wszystkich form organizmów. Szczegółowe poznanie tak ogromnego składu gatunkowego mikroorganizmów przez dziesięciolecia ograniczone było metodami nazywanymi dziś klasycznymi, które pozwalają na hodowlę oraz częściowe poznanie zaledwie około 1% wszystkich gatunków. Przełom przyniosło wprowadzenie niezwykle wydajnych systemów sekwencjonowania DNA, jednak wymagają one ogromnych nakładów finansowych oraz są czasochłonne. Niezwykle pomocna i generująca stosunkowo duże ilości wyników przy stosunkowo niewielkim nakładzie finansowym jest elektroforeza żelowa w gradiencie środka denaturującego (DGGE). Początkowo stosowana była do wykrywania mutacji punktowych istotnych w diagnozowaniu chorób genetycznych, dziś jednak znajduje również zastosowanie w szybkiej analizie bioróżnorodności gatunkowej różnych środowisk. Opiera się na zjawisku różnicy w mobilności cząsteczek DNA znajdujących się w polu elektrycznym, zależnej od sekwencji nukleotydomowej. Dzięki niej możemy oddzielić od siebie cząsteczki DNA o tej samej długości, różniące się między sobą nawet o jedną zasadę. Dzięki metodzie DGGE nie poznamy jednak dokładnego składu gatunkowego, możemy natomiast wykorzystać ją do ogólnej oceny przemian jakie następują z biegiem czasu lub pod wpływem zmiennych czynników środowiskowych czy zewnętrznych.

Słowa kluczowe: DGGE, bioróżnorodność, gleba

Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) as a method to study changes in soil biodiversity

The soil is called by many scientists the largest organism on Earth, and the most complex environment to live for almost all forms of organisms. Understanding such a great species composition of microorganisms for decades has been limited to conventional methods which permit cultivation and partial examination of only about 1% of all species. The introduction of high-performance systems of DNA sequencing was a major breakthrough, but they require a huge capital investment, and are time consuming. Extremely helpful and generating a relatively large amount of results with a relatively small financial outlay is a denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). Originally it was used to detect point mutations important in the diagnosis of genetic diseases, but today is also used for rapid analysis of the species biodiversity of different environments. Based on the phenomenon of the difference in mobility of the DNA molecules in an electrical field dependent on the nucleotide sequence. It allows to separate the DNA molecules of the same length, differing from each other as much as one base. With DGGE method, however, we do not know the exact composition of species, but we can use it for an overall assessment of the changes that occur over time or influenced by variable environmental or external factors.

Keywords: DGGE, biodiversity, soil

Heterologiczna ekspresja lakazy

Ewa Kutryn, ewa_kutryn@sggw.pl, Katedra Biochemii, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego

Grzegorz Janusz, gjanusz@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Biochemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

Agnieszka Grabowska, agnieszka_grabowska@sggw.pl, Katedra Biochemii, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego

Lakazy (EC 1.10.3.2) są to oksydoreduktazy należące do klasy niebieskich oksydaz katalizujących reakcje utleniania fenoli i amin takich jak meto-oksyfenole, polifenole, anilina, hydroksoindole, benzenotiole. Te unikalne wśród enzymów właściwości katalityczne sprawiają, że lakaza znajduje liczne zastosowania w wielu gałęziach przemysłu: kontroli zanieczyszczeń środowiska, przemyśle włókienniczym, biosensorach, przemyśle spożywczym, farmaceutycznym oraz syntezie organicznej. Jednakże rosnące wymagania przemysłu sprawiają, że konieczne jest użycie coraz bardziej wydajnych producentów niebieskiej oksydoreduktazy. Dlatego wydaje się, że ich heterologiczna ekspresja powinna być bardziej odpowiednia do produkcji na wielką skalę. Ekspresja lakazy w układzie heterologicznym została opisana głównie w grzybach nitkowatych (*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sojae* i *Trichoderma reesei*) oraz w drożdżach (*Sacharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, *Pichia methalonica*, *Yarrowia lipolytica*, *Kluyveromyces lactis*). Niestety ekspresja grzybowej lakazy w bakteriach na dużą skalę nie została jeszcze osiągnięta, co jest głównie spowodowane problemami z glikozylacją tego zewnątrzkomórkowego enzymu. Pewne nadzieje na sukces daje niedawne odkrycie lakaz bakteryjnych, których budowa wydaje się je bardziej predysponować do ekspresji w komórkach prokariotycznych.

Podziękowania: The project was funded by the National Science Centre (Poland) based on the decision number DEC-2013/09/B/NZ9/01829.

Słowa kluczowe: lakaza, ekspresja heterologiczna, biotechnologia

Heterologous expression of laccase

Laccase (EC 1.10.3.2) belongs to so-called blue multi-copper oxidases possessing ability to oxidase phenols and amines i.e.: methoxyphenols, polyphenols, aniline, hydroxyindoles and benzyl merkaptan. Based on its unique catalytic features, laccase was applied in textile and food industry, biosensors, pharmaceuticals, organic synthesis and waste removal. However, growing market of enzymes makes researches over the world to search for more efficient blue copper-containing oxidase producers. Therefore, it seems that heterologous expression of laccase should be more adequate to produce enzyme in technical scale. Up to date laccase successful expression in heterologous organisms was described in filamentous fungi (*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sojae* and *Trichoderma reesei*) and yeasts (*Sacharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, *Pichia methanica*, *Yarrowia lipolytica*, *Kluyveromyces lactis*). However, despite many trials fungal laccase has not been successfully expressed in bacterial cells in reasonable amounts and activities. Nevertheless, considering that bacterial laccases were recently discovered, there is a chance that they are more suitable to be expressed in hosts originated from Prokaryotes.

Acknowledgments: The project was funded by the National Science Centre (Poland) based on the decision number DEC-2013/09/B/NZ9/01829.

Keywords: laccase, heterologous expression, biotechnology

Metaboliczne oraz genetyczne różnice pomiędzy szczepami drożdży winnych, określone metodami spektroskopii w podczerwieni

Magdalena Biesiadecka, *biesiadeckamagdalena@gmail.com*, Zakład Genetyki, Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Sokołowska 26, Kolbuszowa

Piotr Śliwa, Zakład Genetyki, Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Sokołowska 26, Kolbuszowa

Joanna Depciuch, Zakład Badań Materii Miękkiej, Instytut Fizyki Jądrowej Polskiej Akademii Nauk, ul. Radzikowskiego 152, Kraków

Drożdże są to mikroorganizmy powszechnie wykorzystywane w różnych dziedzinach przemysłu w tym przy produkcji wina. Najpopularniejszymi gatunkami drożdży w winnicach są *Saccharomyces cerevisiae* oraz *Saccharomyces bayanus*, których szczepy są selekcyonowane oraz modyfikowane w celu pozyskania napoju o preferowanych walorach smakowych. Głównym celem badań było określenie metabolicznych różnic pomiędzy komercyjnie używanymi szczepami drożdży winnych za pomocą Spektroskopii w podczerwieni (FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*). Metoda ta umożliwia badanie drgań cząstek chemicznych dzięki czemu możliwe jest określenie struktury substancji oraz jej jakościowej i ilościowej zawartości w mieszaninie. Analizie poddano kolekcję 12 szczepów drożdży winnych, które hodowano w różnych podłożach oraz przy zróżnicowanej zawartości cukrów. Metodą spektroskopii w podczerwieni określono stosunek białkowo-lipidowy drożdży, zawartość fenoli, estrów oraz innych substancji jak również wykazano występowanie różnych strategii metabolicznych zależnie od szczepu oraz użytego medium. Badania sugerują iż spektroskopia w podczerwieni jest bardzo dobrą metodą pozwalającą na dopasowanie szczepu drożdży do pożądanego profilu smakowego wina.

Słowa kluczowe: drożdże, wino, metabolizm, profil smakowy

Wine yeasts metabolic and genetic differences between strains, detected by infrared spectroscopy

Yeast are microorganisms commonly used in range of field of industry, in wine production as well. The most popular yeast species in urinary area *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus*, which are responsible for wine taste profile and also yeast determine alcohol concentration in beverage. They are specially selected from nature and modiflicated as well, to achieve unique taste of beverage. The main goal of project was to define metabolic differences between commercial industrial wine yeast strains by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. The method allows quantification and qualification of substance in mixture. Collection of 12 yeast strains was cultured in range of medium, and different concentration of sugars. There was identified yeast protein and lipid profile, fenols, esters and other substances concentration. It was also demonstrated that they are various metabolic strategies between strains and used medium. Research suggest that FTIR is perfect method to determine and compare naturally selected yeast and mach strain to achieve desirable wine taste profile.

Keywords: yeast, wine, metabolism, taste profile

Mikroflora zwłok jako alternatywny wskaźnik umożliwiający ustalenie czasu zgonu

Ewelina Cholewińska, ewelina.cholewinska@mailplus.pl, Katedra Biochemii i Toksykologii, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl

Piotr Listos, piotr.listos@up.lublin.pl, Katedra Anatomii Patologicznej; Wydział Medycyny Weterynaryjnej; Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl

Katarzyna Ognik, kasiaognik@poczta.fm, Katedra Biochemii i Toksykologii, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl

Znajomość występowania i tempa rozwoju poszczególnych mikroorganizmów w zwłokach oraz produktów ich metabolizmu wykorzystywana jest przez naukowców do opracowania metody pozwalającej z dokładnością do kilku minut ustalić czas śmierci denata. Dlatego też celem pracy jest zaprezentowanie mikroorganizmów uczestniczących w procesach dekompozycji zwłok oraz możliwości ich wykorzystania w ustalaniu czasu śmierci.

Mikroorganizmy rozkładające makromolekuły budujące ciało człowieka pochodzą zazwyczaj z układu pokarmowego, oddechowego i skóry denata, jak również ze środowiska zewnętrznego. Tempo procesów rozkładowych zwłok, warunkowane aktywnością drobnoustrojów, zwiększa się wraz ze wzrostem temperatury. Procesy degradacyjne tłuszczu odbywają się przy udziale lipaz produkowanych m.in. przez bakterie *Pseudomonas*, *Escherichia* i *Enetrobacter*, drożdże *Candida* i *Torula* oraz grzyby strzępkowe *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* skutkując powstaniem krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych ulegających β -oksydacji. Rozkład białek odbywa się natomiast wskutek działania peptydaz produkowanych m.in. przez bakterie *Bacillus*, *Proteus* i *Clostridium* oraz pleśnie *Aspergillus* i *Penicillium*. Powstałe aminokwasy ulegają degradacji do NH_3 , amin i CO_2 , a także do merkaptanów redukujących się do H_2S . Wszystkie wyżej wymienione związki podobnie jak produkty rozkładu tryptofanu (indol, skatol) oraz CH_4 odpowiedzialne są za gnilny zapach zwłok. Gazy gnilne dodatkowo powodują puchnięcie ciała denata.

Słowa kluczowe: rozkład, zwłoki, bakterie, grzyby

The microflora of the corpse as an alternative indicator enabling to determine the time of death

The knowledge of the occurrence and rate of development of individual microorganisms in the corpse and their metabolic products is used by scientists to develop an alternative method to determine the time of death of the deceased within a few minutes. Therefore, the aim of this work is to present the microorganisms involved in the processes of decomposition of the corpses and the possibility of their use in determining the time of death.

Microorganisms decompose macromolecules that build the human body usually come from the digestive tract, respiratory system and skin of the deceased, as well as from the external environment. Rate of processes scheduled bodies, conditioned by the activity of microorganisms, increases with increasing temperature. Fat degradation processes take place with the participation of lipases produce inter alia bacteria – *Pseudomonas*, *Escherichia* and *Enterobacter*, *Candida* and *Torula* yeast and filamentous fungi – *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, resulting in short chain fatty acids undergoing β -oxidation. Decomposition of proteins takes place by the action of peptidase produced inter alia bacteria *Bacillus*, *Clostridium* and *Proteus* and *Aspergillus* and *Penicillium* molds. The resulting amino acids are degraded to NH_3 and CO_2 , amines, mercaptans, as well as reducing the H_2S . All of the above compounds as decomposition products of tryptophan (indole, skatole) and CH_4 are responsible for the smell of rotting corpses. Putrefaction gases also cause swelling of the body of the deceased.

Keywords: decomposition, corpse, bacteria, fungi

Możliwości zastosowania bakterii z rodzaju *Azospirillum* w uprawie roślin

Małgorzata Łyszcz, *mlyszcz@iung.pulawy.pl*, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

Anna Gałazka, *agalazka@iung.pulawy.pl*, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

W środowisku naturalnym wzrost i rozwój roślin jest ściśle związany z czynnikami abiotycznymi i biotycznymi. Spośród czynników biotycznych znaczącą rolę odgrywają bakterie. Bakterie z rodzaju *Azospirillum* są jednymi z najlepiej przebadanych rizobakterii stymulujących wzrost roślin (PGPR – *plant growth-promoting rhizobacteria*), które są zazwyczaj związane z trawami, ryżem, pszenicą, trzciną cukrową i roślinami bobowatymi. Obecnie znanych jest 18 gatunków *Azospirillum*, (w kolejności odkrycia): *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferens*, *A. irakense*, *A. largimobile*, *A. doebereineriae*, *A. oryzae*, *A. melinis*, *A. canadense*, *A. zea*, *A. rugosum*, *A. picis*, *A. thiophilum*, *A. formosense*, *A. fermentarium*, *A. himalayense*, *A. humicireducens*. Spośród nich *A. brasilense* i *A. lipoferum* są najlepiej przebadanymi i dobrze opisanymi gatunkami. Bakterie te, występują powszechnie w klimacie umiarkowanym, tropikalnym i zwrotnikowym. Bakterie z rodzaju *Azospirillum* występują w strefie korzeniowej roślin lub jako endofity w powierzchniowych tkankach roślinnych. Niewątpliwie odgrywają one znaczącą rolę w rolnictwie, gdyż posiadają zdolność wiązania azotu (*biological nitrogen fixation* – BNF) zwalczania chorób roślinnych (bioprotektanty) poprawy nabycia składników odżywczych (bionawozy) oraz produkcji fitohormonów (biostymulatory). Zrozumienie interakcji pomiędzy konsorcjami bakterii i roślinami pozwoli uzyskać więcej korzyści mających na celu poprawę jakości plonów.

Słowa kluczowe: azospirillum, biologiczne wiązanie azotu, rizobakterie stymulujące wzrost roślin

Possible applications of *Azospirillum* bacteria in the cultivation of plants

In the natural environment plant growth and development is closely related to abiotic and biotic factors. Among the biotic factors plays a important role bacteria. *Azospirillum* is one of the best-studied plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) that are normally associated with grasses, rice, wheat, sugarcane and legumes. Presently, 18 species of *Azospirillum* have been described (in order of discovery): *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferens*, *A. irakense*, *A. largimobile*, *A. doebereinerae*, *A. oryzae*, *A. melinis*, *A. canadense*, *A. zea*, *A. rugosum*, *A. picis*, *A. thiophilum*, *A. formosense*, *A. fermentarium*, *A. humicireducens* and *A. himalayense*). Of these, *A. brasilense* and *A. lipoferum* are the most studied and well described. These bacteria are common in temperate, tropical and tropic climate. Bacteria of the genus *Azospirillum* present in the root zone of plants or the endophytes into surface tissues of the plant. Undoubtedly, a important role in agriculture, because they have the ability to fix nitrogen (biological nitrogen fixation – BNF) to combat plant diseases (bioprotectants) to improve the acquisition of nutrients (biofertilizers) and the production of phytohormones (biostimulators). Understanding the interaction between the consortium of bacteria and plants will enable get more benefits aimed at improving the quality of crops.

Keywords: azospirillum, biological nitrogen fixation, plant growth promoting rhizobacteria

Ocena potencjału biotechnologicznego szczepów bakterii fermentacji mlekowej izolowanych z różnych środowisk

Michał Świątek, *michal.swiatek@itm.turek.pl*, Instytut Technologii Mikrobiologicznych, Stowarzyszenie Ekosystem - Dziedzictwo Natury, www.itm.turek.pl

Daria Szymanowska-Powałowska, *darszy@up.pl*, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, puls.edu.pl

Barbara Cania, *barbara.cania@itm.turek.pl*, Instytut Technologii Mikrobiologicznych, Stowarzyszenie Ekosystem - Dziedzictwo Natury, www.itm.turek.pl

Szymon Powalowski, *szymon.powalowski@itm.turek.pl*, Instytut Technologii Mikrobiologicznych, Stowarzyszenie Ekosystem - Dziedzictwo Natury, www.itm.turek.pl

Bakterie fermentacji mlekowej (LAB) stanowią grupę mikroorganizmów znajdującą zastosowanie w przemyśle; szczególnie powszechne jest ich stosowanie w procesach biotechnologicznych. Celem niniejszej pracy było wyselekcjonowanie szczepów LAB o potencjale biotechnologicznym.

Mikroorganizmy izolowano z kiszonych kapusty i ogórków poddanych procesowi spontanicznej fermentacji oraz z kału niemowlęcia karmionego mlekiem matki. Izolaty zostały poddane szerokiemu zakresowi analiz opisujących ich właściwości metaboliczne (synteza enzymów proteolitycznych, celulolitycznych i amylolitycznych, rozkład zróżnicowanych źródeł węgla) oraz możliwość wykorzystania praktycznego. Zbadano aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec powszechnie opisywanych przedstawicieli mikroflory patogenicznej. Wybrane szczepy poddano analizom filogenetycznym.

Wszystkie szczepy z kału niemowlęcia zidentyfikowano jako *Enterococcus faecalis* i, mimo jednakowych wzorów RAPD w analizach różnicujących, charakteryzowały się zróżnicowaną aktywnością przeciwdrobnoustrojową. Szczepy *E. faecalis* wykazywały również stosunkowo dobrą zdolność do wzrostu na 4% roztworze melasy trzcinowej oraz były jedynymi, wśród których wykazano aktywność proteolityczną. Ekotypy kiszonych warzyw charakteryzowały się szerokim zakresem aktywności przeciwdrobn-

ustrojowej obejmującym przedstawicieli mikroflory chorobotwórczej lub wywołującej zakażenia żywności. Wśród tej puli szczepów najczęściej izolowano *Lactobacillus plantarum* oraz pojedynczo – *Pediococcus pentosaceus*.

Słowa kluczowe: bakterie fermentacji mlekowej, szczepy przemysłowe, aktywność przeciwdrobnoustrojowa, identyfikacja

The evaluation of the biotechnological potential of strains isolated from diverse environments

Lactic acid bacteria (LAB) are group of microorganism which signification in industry is well established; particularly common is their application in biotechnology processes. Presented work was aimed at selection of LAB strains exhibiting biotechnological potential.

Microorganisms has been isolated from pickled cabbage and cucumber obtained during spontaneously conducted fermentation process as well as from feces of infant fed with mother's milk. Isolates has been subjected to a broad spectrum of studies in order to describe their metabolic properties (proteolytic activity, cellulolytic activity, amylolytic activity, utilisation of diverse carbon sources) and possibility of practical application. The antimicrobial activity of the isolates against pathogenic agents has been evaluated. Selected microorganisms have been subjected for phylogenetic analysis.

All strains isolated from infant's feces has been identified as *Enterococcus faecalis* and, although their exhibited homological RAPD patterns, each of isolates was different in antimicrobial activity. *E. faecalis* strains also showed a relatively good ability to grow on 4% solution of sugarcane molasses and were the only of which showed proteolytic activity. Ecotypes isolated from pickled vegetables has been distinguished as strong antimicrobial agents against pathogenic and food poisoning bacterial species. In this population *Lactobacillus plantarum* was the most abundant and *Pediococcus pentosaceus* has been described in a single case.

Keywords: lactic acid bacteria, industrial strains, antimicrobial activity, identification

Ocena wrażliwości na antybiotyki aminoglikozydowe i ryfampicynę szczepów *Staphylococcus epidermidis* tworzących i nietworzących biofilmu

Krystian Jakubczak, *jakubczak_krystian@wp.pl*, Koło STN przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i Wirusologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Michał Kania, *mkania094@gmail.com*, Koło STN przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i Wirusologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Tomasz Zawila, *t.zawila@vp.pl*, Koło STN przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i Wirusologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Tomasz J. Wąsik, *twasik@sum.edu.pl*, Katedra i Zakład Mikrobiologii i Wirusologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, www.mikrowir.sum.edu.pl

Robert D. Wojtyczka, *rwojtyczka@sum.edu.pl*, Katedra i Zakład Mikrobiologii i Wirusologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, www.mikrowir.sum.edu.pl

Wstęp: *Staphylococcus epidermidis* jest częstą przyczyną infekcji szpitalnych związanych z implantacją zastawek serca, protez naczyniowych lub endoprotez co może być spowodowane tworzeniem biofilmu. Antybiotyki aminoglikozydowe, a szczególnie gentamycyna może być stosowana w połączeniu z wankomycyną i ryfampicyną w leczeniu zapalenia wsierdza na protezach zastawek serca wywołanego przez gronkowce koagulazoujemne.

Cel pracy: Celem badań była ocena wrażliwości szczepów *S. epidermidis* wyizolowanych z łożyska naczyniowego na antybiotyki aminoglikozydowe oraz rifampicynę w zależności od ich zdolności do tworzenia biofilmu.

Materiały i metody: W badaniach wykorzystano 40 szczepów *S. epidermidis* pochodzących z kolekcji drobnoustrojów KMiw SUM. Badania lekowrażliwości przeprowadzono metodą krążkowo-dyfuzyjną

z 4 antybiotykami aminoglikozydowymi – gentamycyną, netylmycyną, tobramycyną i amikacyną oraz rifampicyną zgodnie z zaleceniami EUCAST.

Wyniki: W przeprowadzonych badaniach tylko 14 szczepów (35%) *S. epidermidis* wykazało wrażliwość na wszystkie badane antybiotyki. Spośród antybiotyków aminoglikozydowych najwyższą aktywność na szczepie *S. epidermidis* wykazywała amikacyna i netylmycyna (31 szczepów) następnie gentamycyna (16 szczepów) i tobramycyna (14 szczepów). W przypadku oceny wrażliwości szczepów na rifampicynę, tylko 1 szczep wykazywał oporność w badaniach *in vitro*.

Wnioski: Szczepy *Staphylococcus epidermidis* wyizolowane z próbek krwi wykazały wysoka oporność na antybiotyki aminoglikozydowe, zwłaszcza na tobramycynę i gentamycynę i bardzo wysoką wrażliwość na rifampicynę. Nie wykazano istotnego zróżnicowania w lekowrażliwości szczepów tworzących i nietworzących biofilmu.

Słowa kluczowe: *staphylococcus epidermidis*, aminoglikozydy, rifampicyna

Evaluation of sensitivity to aminoglycoside antibiotics and rifampicin strains of *Staphylococcus epidermidis* forming and not forming biofilm

Introduction: *Staphylococcus epidermidis* is a frequent cause of clinical infection associated with implantation of heart valves, vascular dentures or endoprostheses which may be caused due to the formation of biofilm. Aminoglycoside antibiotics particularly gentamicin can be used in combination with rifampicin and vancomycin in the treatment of endocarditis on prosthetic heart valves caused by coagulase-negative staphylococci.

Target of study: The aim of the study was to evaluate the sensitivity of strains of *S. epidermidis* isolated from the vascular bearing to aminoglycosides and rifampicin depending on their ability to form biofilm.

Materials and Methods: The study used 40 strains of *S. epidermidis* from the collection of microorganisms KMiw SUM. Sensitivity test was performed by disk diffusion method with 4 aminoglycoside antibiotics – gentamicin, netilmicin, tobramycin, amikacin and also rifampicin according to the recommendation of EUCAST.

Results: In study, only 14 strains (35%) *S. epidermidis* showed sensitivity to all tested antibiotics. Among the aminoglycoside antibiotics the highest activity against strains of *S. epidermidis* showed amikacin and netilmicin (31 strains) followed by gentamicin (16 strains) and tobramycin (14 strains). In the case of evaluation of susceptibility to rifampicin, only one strain was resistant *in vitro*.

Conclusions: Strains of *Staphylococcus epidermidis* isolated from the blood samples showed a high resistance to aminoglycoside antibiotics, particularly on gentamicin and tobramycin also very high sensitivity to rifampicin. There were no significant differences in the susceptibility of strains which forming and not forming biofilm.

Keywords: staphylococcus epidermidis, aminoglycosides, rifampicin

Pożyteczna rola grzybów endofitycznych

Barbara Abramczyk, babramczyk@iung.pulawy.pl, Zakład
Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia
i Gleboznawstwa- PIB, www.iung.pulawy.pl

Grzyby endofityczne należą do mikroorganizmów bezobjawowo zasiedlających wnętrza tkanek roślinnych. Szacuje się, że niemal każda roślina na świecie jest zasiedlana przez co najmniej jeden organizm endofityczny. Dzięki nawiązaniu symbiozy z grzybami endofitycznymi, roślina – gospodarz zyskuje wiele korzyści m. in. szybciej rośnie, następuje indukcja odporności na czynniki stresowe oraz ochrona przed licznymi fitopatogenami, szkodnikami i nicieniami. W zamian za to, endofit otrzymuje schronienie i dostęp do składników odżywczych.

Badania ostatnich lat wykazały, że grzyby endofityczne stanowią bogate źródło cennych metabolitów o potencjalnym wykorzystaniu nie tylko w medycynie, przemyśle i rolnictwie, ale również w integrowanej ochronie roślin, jako alternatywa dla środków chemicznych.

Biorąc pod uwagę rosnącą troskę o środowisko naturalne i wydane w związku z tym rozporządzenia i dyrektywy Unii Europejskiej, naukowcy skupiają się obecnie na poszukiwaniu biologicznych metod ochrony roślin, a grzyby endofityczne stanowią obiecujący materiał do tego typu badań.

Słowa kluczowe: metabolity, biologiczna ochrona roślin, mikroorganizmy

The beneficial role of fungal endophytes

The fungal endophytes belong to the microorganisms which colonize and grow asymptotically within healthy plant tissues. It is estimated that almost every plant in the world is inhabited by at least one endophyte. Thanks to the symbiosis with fungal endophyte, plant-host is gaining a lot of benefits such as: plant growth promotion, induction of stress tolerance and protection against numerous plant pathogens, pests and nematodes. In return, the endophyte receives shelter and access to nutrients.

Recent studies have shown that the fungal endophytes are a rich source of valuable metabolites of potential use not only in medicine, industry and agriculture, but also in the integrated plant protection as an alternative to chemicals used.

Due to the growing concern for the environment supported by the European Union regulations, the scientists are focused recently on the search for biological methods of plant protection. The fungal endophytes are considered to be a promising material for this type of research.

Keywords: metabolites, biological plant protection, microorganisms

Selekcja szczepów bakterii potencjalnie promujących wzrost roślin jagodowych

Izabela Gebler, *izabela.gebler@itm.turek.pl*, Instytut Technologii Mikrobiologicznych, Stowarzyszenie Ekosystem – Dziedzictwo Natury, www.itm.turek.pl

Michał Świątek, *michal.swiatek@itm.turek.pl*, Instytut Technologii Mikrobiologicznych, Stowarzyszenie Ekosystem – Dziedzictwo Natury, www.itm.turek.pl

Szymon Powalowski, *szymon.pawalowski@itm.turek.pl*, Instytut Technologii Mikrobiologicznych, Stowarzyszenie Ekosystem – Dziedzictwo Natury, www.itm.turek.pl

Marzena Marzec, *marzena.marzec@up.lublin.pl*, Katedra Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, www.up.lublin.pl

Ewa Solarska, *ewa.solarska@up.lublin.pl*, Katedra Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, www.up.lublin.pl

Jednym z warunków prawidłowego rozwoju, wzrostu i plonowania roślin jest ich współdziałanie z mikroorganizmami synbiotycznymi. Celem niniejszej pracy było wyselekcjonowanie szczepów potencjalnie promujących wzrost roślin jagodowych spośród mikroflory ryzosferowej oraz endofitycznej korzeni i łodyg tych roślin.

Ze świeżych tkanek ekologicznie uprawianych roślin czarnej porzeczki, malin i truskawek izolowano mikroorganizmy, które badano w aspekcie zdolności nawiązywania symbiozy z roślinami jagodowymi. Ponadto izolaty reprezentujące najkorzystniejsze cechy oceniano pod kątem aktywności przeciwdrobnoustrojowej wobec pleśni i bakterii fitopatogennych. Izolaty te zostały poddane analizom filogenetycznym.

Spośród 246 izolatów wytypowano 46, które wykazywały najkorzystniejsze cechy obejmujące zdolność do syntezy sideroforów, cyjanowodoru, fitohormonu IAA, enzymów celulolitycznych, zdolność do rozkładu związków fosforu oraz zdolność do ruchu. Aktywność przeciwdrobnoustrojową częściej wykazywały szczepy endofityczne korzeni niż izolowane

z ryzosfery. Izolaty bakterii potencjalnie promujące wzrost roślin jagodowych reprezentowały 11 rodzajów spośród których wyodrębniono łącznie 17 różnych gatunków. Najczęściej były to gatunki z rodzajów *Pseudomonas*, *Pantoea* oraz *Bacillus*. Największą różnorodnością charakteryzowały się bakterie wyizolowane z czarnej porzeczki, które zaszeregowano również do rodzajów *Variovorax*, *Chryseobacterium* oraz *Lysobacter*.

Słowa kluczowe: bakterie promujące wzrost roślin, rośliny jagodowe, bakterie endofityczne, bakterie ryzosferowe

The selection of bacteria potentially supporting the growth of bacciferous plants

One of the requirements for the proper development, growth and yield of plants is their cooperation with symbiotic microorganisms. The aim of this research was to select of bacteria as agents potentially supporting the growth of bacciferous plants from the population of microflora representing rhizosphere and endophyte of roots and stems of those plants.

Microorganisms were isolated from fresh tissues of organically grown black currants, raspberries and strawberries and the ability of establishing symbiosis with bacciferous plants were studied. In addition, isolates representing the best properties were evaluated for antimicrobial activity against plant pathogens. These isolates have been subjected to phylogenetic analysis.

From the total of 246 isolates only 46 have been selected which showed the best properties, including the ability to siderophore and hydrogen cyanide synthesis, indole-3-acetic acid (IAA) secretion, cellulolytic activity, the phosphate solubilization and motility. Endophyte isolates from roots exhibited antimicrobial activity more frequently than microorganisms isolated from the rhizosphere. Microorganisms selected as potentially supporting the growth of bacciferous plants represented 11 genus among which a total of 17 different species have been distinguished. *Pseudomonas*, *Bacillus* and *Pantoea* were the most often identified. Bacteria isolated from black currant which were also classified to genus *Variovorax*, *Chryseobacterium* and *Lysobacter* demonstrated the greatest diversity.

Keywords: plant promoting growth bacteria, bacciferous plants, endophyte, rhizosphere

System Biolog – narzędzie do identyfikacji i charakterystyki mikroorganizmów środowiskowych

Izabela Biedroń, izabiedron@ietu.katowice.pl, Instytut Ekologii
Terenów Uprzemysłowionych, www.ietu.katowice.pl

Joanna Chojniak, chojniak@ietu.katowice.pl, Instytut Ekologii
Terenów Uprzemysłowionych, www.ietu.katowice.pl

Łukasz Jałowiecki, jalowiecki@ietu.katowice.pl, Instytut Ekologii
Terenów Uprzemysłowionych, www.ietu.katowice.pl

Grażyna Plaza, pla@ietu.katowice.pl, Instytut Ekologii Terenów
Uprzemysłowionych, www.ietu.katowice.pl

Celem badań była identyfikacja i charakterystyka szczepu należącego do rodzaju *Bacillus* wyizolowanego z gleb zanieczyszczonych węglowodorami ropopochodnymi.

Do identyfikacji szczepów wykorzystano płytki GEN III zawierające 71 związków będących źródłami węgla oraz 23 testy określające wrażliwość chemiczną analizowanego szczepu. 96-dołkowe płytki GENIII umożliwiają identyfikację zarówno bakterii Gram plus, jak i Gram minus. Uzyskany profil metaboliczny badanego szczepu porównano z bazą danych dostępną w systemie Biolog. Na podstawie uzyskanych wyników wybrany szczep oznaczony jako *Bacillus subtilis*. Analizę fenotypową zidentyfikowanego szczepu przeprowadzono używając mikroplitek PM (ang. *phenotypic microarrays*) systemu Biolog. Do badań użyto następujące mikroplutki: PM1 – PM4 umożliwiające ocenę wykorzystania różnych substratów, kolejno węgla, azotu, fosforu oraz siarki, mikroplutki PM9 i PM10 umożliwiające określenie optymalnych warunków hodowli, tj. pH i warunków osmotycznych oraz mikroplutki PM11-PM13, które posłużyły do określenia wrażliwości wyizolowanego szczepu na różne związki chemiczne, w tym antybiotyki. Te same mikroplutki użyto do charakterystyki fenotypowej szczepu referencyjnego *Bacillus subtilis* (ATCC 6633).

Do analizy danych posłużyły następujące programy: program do analizy danych OmniLog® MicroArray™ wersja 1.2 (Biolog Inc.), Statistica 10.0 PL i program “DuctApe”.

W wyniku przeprowadzonych badań scharakteryzowano fenotypowo szczep środowiskowy *Bacillus subtilis* oraz wykazano różnice w profilach metabolicznych między szczepem referencyjnym a szczepem środowiskowym.

Analiza fenotypowa mikroorganizmów środowiskowych przy użyciu mikropłytek PM systemu Biolog umożliwia poznanie ich specyficznych cech metabolicznych jako wynik, m.in. adaptacji do ekstremalnych warunków środowiska.

Badania były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu nr 2013/09/B/NZ9/01759.

Słowa kluczowe: *Bacillus* spp., system Biolog, profil fenotypowy (PMs), identyfikacja GENIII

Biolog system – new tool for identification and characterization of environmental microorganisms

The aim of this study was the identification and characterization of *Bacillus* strain isolated from petroleum hydrocarbons contaminated soil by using the BIOLOG system.

The identification of the isolate was performed by new GEN III MicroPlate™ test panel of the Biolog system. The GEN III MicroPlates™ are enable testing of gram negative and gram positive bacteria in the same test panel. The test panel contains 71 carbon sources and 23 chemical sensitivity assays. GEN III dissects and analyzes the ability of the cell to metabolize all major classes of compounds, in addition to determining other important physiological properties such as pH, salt and lactic acid tolerance, reducing power, and chemical sensitivity. The obtained specific profile of isolate was compared with the data available in Biolog system, and selected strain was identified as *Bacillus subtilis*.

The Phenotypic Microarrays analysis were performed using Biolog PM Service Facility (CA). The analysis consisted of both metabolic and sensitivity panels with nine 96-well plates was performed to obtain phenotypic profiles of the bacteria. The four metabolic panels (PM1 – PM4) were used to test carbon, nitrogen, phosphate, and sulfur utilization. The PM9 – PM13 were tested for osmolality, pH and chemical sensitivity

(including antibiotics). The same microplates were also used to characterize the reference strains of *Bacillus subtilis*.

The data were collected using OmniLog® MicroArray™ Data Collection Software Release 1.2 (Biolog Inc.). The Statistica 10.0 PL software package was used for graphic of Biolog OUs (OmniLog units) and the software “DuctApe” was used to analyze and link together both the genomic and phenomic data, and suggests genetic explanations of metabolic phenotypes.

Presented research allowed to determine the differences between the metabolic profiles of reference strain and strain isolated from the contaminated environment. Phenotypic analysis of environmental microorganisms by using PMs microplates allow to reach the specific metabolic properties of microorganisms growing under various extreme stressors.

Acknowledgements: This work was done under the project No 2013/09/B/NZ9/01759 sponsored by the National Science Center.

Keywords: *Bacillus* spp. Biolog system, phenotypic profile (PMs), identification (GENIII)

Wpływ oleju napędowego na liczebność bakterii ryzosferowych *Pseudomonas fluorescens*

Natalia Gmitrzuk, natalia_gmitrzuk@sggw.pl, Katedra Kształtowania Środowiska, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, <http://wbis.sggw.pl>

Elżbieta Wolejko, e.wolejko@pb.edu.pl, Zakład Biologii Sanitarnej i Biotechnologii, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Politechnika Białostocka, <http://wb.pb.edu.pl/index,1.html>

Urszula Wydro, u.wydro@pb.edu.pl, Zakład Biologii Sanitarnej i Biotechnologii, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Politechnika Białostocka, <http://wb.pb.edu.pl/index,1.html>

Celem badań było określenie liczebności bakterii ryzosferowych *Pseudomonas fluorescens* w strefie korzeniowej dwóch gatunków traw rosnących na glebie zanieczyszczonej olejem napędowym.

Badania prowadzono w lizymetrach wypełnionych glebą o składzie granulometrycznym piasku pylastego lekkiego zanieczyszczonego olejem napędowym (ON) w dawkach 2,5 i 5,0 g/kg gleby (kontrola – gleba bez oleju napędowego). Analizowano rozwój systemów korzeniowych tomki wonnej (*Anthoxanthum odoratum* L.) – gatunek populacyjny oraz kostrzewy czerwonej (*Festuca rubra* subsp. *commutata*, odm. gazonowa) oraz liczebność bakterii *Pseudomonas fluorescens* w okresie od 15.04. do 30.09. 2015 r. (3 pobory).

Stwierdzono, że olej napędowych ograniczał rozwój systemu korzeniowego traw, zwłaszcza tomki wonnej rosnącej na glebie zanieczyszczonej olejem w dawce 5,0 g/kg gleby. Ogólna liczebność bakterii była znacznie większa na glebie zanieczyszczonej olejem niż w warunkach kontrolnych, niezależnie od wielkości dawki i badanego gatunku rośliny oraz okresu wegetacji. U kostrzewy czerwonej zwiększenie dawki oleju z 2,5 do 5,0 g/kg gleby powodowało wzrost liczebność bakterii ryzosferowych średnio o 77%, natomiast w glebie porośniętej tomką wonną liczebność bakterii zależała od okresu wegetacji i dawki oleju napędowego. W warunkach zanieczyszczenia gleby dawką 2,5 g ON/kg najliczniej występowały one po 3 miesiącach, a na glebie zanieczyszczonej dawką 5,0 g ON/kg po 4 miesiącach od wysiewu.

Słowa kluczowe: olej napędowy, *Pseudomonas fluorescens*, trawy

The impact of diesel oil on the number of rhizosphere bacteria *Pseudomonas fluorescens*

The aim of the research was to determine the number of rhizosphere bacteria *Pseudomonas fluorescens* in the soil contaminated with diesel oil (ON) overgrowing of roots two species of grasses. The study was conducted in lysimeters filled with loamy sand soil polluted with diesel oil (ON) at doses of 2.5 and 5.0 g/kg of soil and control – soil without diesel oil. We analyzed the development of root systems *Anthoxanthum odoratum* L. – a species of a population, and *Festuca rubra* subsp. *commutata* and the number of bacteria *Pseudomonas fluorescens* in the period from 15.04. to 30.09. 2015. (sampling – 3).

It was found that diesel oil limited the development of the root system of the grass, in particular *Anthoxanthum odoratum* growing in the oil contaminated soil in a dose of 5.0 g/kg soil. The total number of bacteria was much greater in the soil contaminated with oil than in control conditions, regardless of the dose and the species of plants and vegetation period. Increasing the dose of oil from 2.5 to 5.0 g/kg of soil resulted an increase in numbers of bacteria *Festuca rubra* rhizosphere an average of 77%, while in the soil covered with *Anthoxanthum odoratum*, number of bacteria depend on the growing season and a dose of diesel fuel. Under conditions of soil contamination dose of 2.5 g ON/kg, the most numerous of *P. fluorescens* were after 3 months, and in soil contaminated of 5.0 g ON/kg after 4 months from sowing.

Keywords: diesel oil, *Pseudomonas fluorescens*, grass

POSTERY NAUKOWE

Aktywność biologiczna *Bacillus amyloliquefaciens* wobec *Fusarium* spp. wyizolowanych z pędów szparaga (*Asparagus officinalis* L.)

Katarzyna Grata, *kgrata@uni.opole.pl*, *Samodzielna Katedra
Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Wydział Przyrodniczo-
Techniczny, Uniwersytet Opolski*

Patogeny roślin, takie jak *Fusarium* spp. to najważniejsze czynniki, które co roku powodują znaczne straty i/lub uszkodzenia produktów rolnych. Celem przeprowadzonych badań była ocena *in vitro* właściwości biologicznych *B. amyloliquefaciens* wobec *F. proliferatum* i *F. oxysporum* wyizolowanych z pędów bielonego szparaga odmiany Grolim. W badaniach uwzględniono: gęstość i wiek hodowli bakterii, rodzaj podłoża oraz wpływ płynu pohodowlanego. Ocenę właściwości antagonistycznych hodowli bakterii 6, 12, 24 i 48-godzinnych przeprowadzono w oparciu o wskaźniki: zdolność kiełkowania zarodników, tempo wzrostu liniowego i indeks tempa wzrostu grzybów z zastosowaniem podłoża PDA oraz szparagowego. Największe zahamowanie tempa wzrostu *F. oxysporum* w wysokości 75% stwierdzono po zastosowaniu supernatantów z 6-godzinnej oraz 79% dla 48-godzinnej hodowli *B. amyloliquefaciens*, odpowiednio na podłożach PDA i szparagowym. Indeks tempa wzrostu *F. proliferatum* był również silnie zahamowany i wyniósł około 72% po zastosowaniu supernatantów z 24-48 godzinnej hodowli. Ponadto stopień kiełkowania zarodników *F. oxysporum* był ograniczony w zakresie 42,3-67,6% a *F. proliferatum* w zakresie 57,5-75%. Wyniki badań sugerują, że szczep *B. amyloliquefaciens* wytwarzając związki przeciwbakteryjne i/lub bioaktywne, czyni go potencjalnym kandydatem do stosowania jako bezpieczny środek biologicznego zwalczania *Fusarium* spp.

Słowa kluczowe: szparagi, *B. amyloliquefaciens*, aktywność przeciwgrzybowa, *Fusarium* spp.

**Biocontrol activities of *Bacillus amyloliquefaciens*
against *Fusarium* spp.
isolated from the white spears of asparagus
(*Asparagus officinalis* L.)**

Plant pathogens such as *Fusarium* spp. are the most important factors that cause major losses and damages to agricultural products every years. The aim of the research was to assess "in vitro" a potential biological activity of *B. amyloliquefaciens* against *F. proliferatum* and *F. oxysporum* isolated from the white spears of asparagus "Grolim". In the conducted studies taken into account three factors: the bacterial cell density and age, the composition of the medium and influence of the cell-free supernatant. The antagonistic properties of bacterial metabolites (6, 12, 24 i 48-hours) were evaluated on the basis of germination index, as the linear growth of fungi and the growth rate index on PDA and asparagus media. The highest inhibition of the growth rate index of *F. oxysporum*, amounting almost 75% was obtained for 6-hour hour cultures and 79% for 48-hour hour cultures of *B. amyloliquefaciens* on PDA and asparagus media, respectively. The growth rate index of *F. proliferatum* was also strongly inhibited (amounted 72%), when were applied 24-48-hours culture. Moreover the degree of fungal spore germination was limited in the range of 42,3-67,6% for *F. oxysporum* and 57,5-75% for *F. proliferatum*. Results obtained in this study suggested that *B. amyloliquefaciens* strain produced either a broad-spectrum antimicrobial compounds or several bioactive compounds making it a potential candidate for use as the safe biocontrol agents against *Fusarium* strains.

Keywords: asparagus, *B. amyloliquefaciens*, antifungal activity, *Fusarium* spp

Bioremediacja chlorofenoli glebowych

Olga Andrzejczak, oandrzejczak@gmail.com, Instytut Technologii
Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk
o Żywności, politechnika łódzka, www.binoz.p.lodz.pl

Chlorofenole stanowią grupę związków powszechnie wykorzystywanych w wielu gałęziach przemysłu. Znajdują zastosowanie w produkcji pestycydów, dezynfektantów czy środków ochrony drewna. Jednocześnie wykazują one działanie toksyczne wobec organizmów żywych, jak również kumulują się w środowisku. Z tego względu niezwykle istotne jest opracowanie skutecznych sposobów ich detoksykacji i usuwania. Jednym z nich jest degradacja na drodze mikrobiologicznej. Przykładami drobnoustrojów zdolnych do rozkładu monochlorofenoli jak również dichlorofenoli są m.in. drobnoustroje należące do *Alcaligenes* sp., *Comamonas testosteroni*, *Bacillus subtilis* czy też *Sphingomonas* sp. Metodami wspomagającymi rozkład chlorofenoli w glebie są biostymulacja, bioaugmentacja oraz zastosowanie drobnoustrojów adaptowanych do określonego typu zanieczyszczeń. Celem niniejszej pracy jest przybliżenie problemu bioremediacji chlorofenoli glebowych ze szczególnym uwzględnieniem wymienionych powyżej metod oraz wykorzystywanych w nich mikroorganizmów.

Słowa kluczowe: chlorofenole; bioremediacja; gleba

Bioremediation of chlorophenols from soil

Chlorophenols are a group of compounds widely used in many branches of industries. They are used in the production of pesticides, disinfectants and wood preservatives. Simultaneously, they exhibit toxic to living organisms, as well as accumulate in the environment. For this reason, it is essential to develop effective methods of detoxification and removal of chlorophenols. The one of way is the use Chlorophenols are a group of compounds widely used in many branches of industries. They are used in the production of pesticides, disinfectants and wood preservatives. Simultaneously, they exhibit toxic to living organisms, as well as accumulate in the environment. For this reason, it is essential to develop effective methods of detoxification and removal of chlorophenols. The one of way is the use of microbial degradation. Examples of microorganisms capable of degrading monochlorophenols and dichlorophenols are, for example, microorganisms belonging to *Alcaligenes* sp., *Comamonas testosteroni*, *Bacillus subtilis* or *Sphingomonas* sp. The methods of supporting the distribution of chlorophenols in soil are biostimulation, bioaugmentation and the the method of use of microorganisms adapted to a specific type of contaminations. The aim of this paper is to introduce the problem of chlorophenols bioremediation of soil with special consideration of the above methods and used in these microorganisms.

Keywords: chlorophenols; bioremediation; soil

Charakterystyka bakterii brodawkowych i ich rola w obiegu azotu

Beata Zdunek, *beatkaz_92@o2.pl*, Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

Monika Jach, *monijach@kul.lublin.pl*, Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

Ewa Sajnaga, *esajnaga@kul.pl*, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

Bakterie brodawkowe zwane bakteriami azotowymi żyją w symbiozie z roślinami motylkowymi tworząc na korzeniach roślin wypustki (narośla). Bakterie te mają zdolność pobierania azotu z gleby, który następnie jest wykorzystywany przez rośliny do wzrostu i rozwoju. Najpopularniejszymi bakteriami azotowymi są bakterie z rodzaju: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium* oraz *Mesorhizobium*.

Azot obecny w glebie w związkach organicznych jest całkowicie niedostępny dla roślin. Dopiero w procesie amonifikacji azot organiczny jest przekształcany w formę mineralną, gdzie następnie podczas nitrifikacji i denitrifikacji ulega redukcji do azotu cząsteczkowego.

Celem pracy jest scharakteryzowanie symbiontów roślin motylkowatych (ich morfologii, cech biochemicznych i przynależności gatunkowej), opisanie metod badawczych stosowanych w taksonomii bakterii oraz określenie ich roli w obiegu jednego z podstawowych pierwiastków niezbędnego do budowy aminokwasów.

Słowa kluczowe: bakterie brodawkowe, azot, obieg azotu

Characteristics of nodule bacteria and their role in the nitrogen cycle

Nodule bacteria called nitrogen bacteria live in symbiosis with leguminous plants form tabs (growths) on the roots of plants. The bacteria are capable to uptake nitrogen from soil. Nitrogen is used for growth and development by the plants. The most common bacteria are: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium* oraz *Mesorhizobium*.

Nitrogen presents in organic compounds in soil is completely inaccessible for plants. Organic nitrogen is converted to the mineral form in ammonification process. Nitrogen is reduced to molecular form in the process of nitrification and denitrification.

The aim of the study is characterization of the legume symbionts (morphology, biochemical and genre), description of the research methods used in the taxonomy of bacteria and indication role of the one basic elements in the cycle.

Keywords: nitrogen, nodule bacteria, ammonification process

Charakterystyka bakteriofagów specyficznych dla *Escherichia coli* izolowanych od drobiu i ocena ich właściwości litycznych

Anna Nowaczek, *anna.dudziec@up.lublin.pl*, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Renata Urban-Chmiel, *renata.urban@up.lublin.pl*, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Marta Dec, *marta.dec@up.lublin.pl*, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Sebastian Gnat, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Celem pracy była izolacja, charakterystyka morfologiczna i ocena właściwości litycznych bakteriofagów swoistych dla *E. coli*.

Do badań wykorzystano 96 szczepów *E. coli*, których antybiotyko-wrażliwość oznaczono metodą mikroplótkową określając wartości MIC. Do izolacji bakteriofagów wykorzystano kał kurcząt, a obecność ich potwierdzano metodą płytek dwuwarstwowych. Miano fagów określono metodą kropelkową stosując seryjne rozcieńczenia lizatu fagowego w buforze TM. Analizę morfologiczną fagów wykonano przy użyciu TEM. Określono zakres gospodarza fagów w stosunku do uzyskanych szczepów *E. coli* analizując obecność łysinek, będących efektem litycznego działania faga, na płytkach dwuwarstwowych z hodowlą *E. coli*.

Analiza antybiotyko-wrażliwości wykazała, że 100% szczepów *E. coli* było opornych na enrofloksacyne, a 61,4% na ciprofloksacyne. Bakterie cechowały się również wysoką opornością na ampicylinę (83,3%) i amoksycylinę (81,2%). Ponad połowa badanych izolatów była oporna na tetracyklinę (64,5%). Najrzadziej obserwowano oporność na gentamycynę i chloramfenikol.

Uzyskano 34 fagi z rzędu *Caudovirales*, które na podstawie struktury morfologicznej zaklasyfikowano do dwóch rodzin: *Myoviridae* i *Siphoviridae*. Wyizolowane fagi wykazały aktywność lityczną wobec 89 szczepów *E. coli*, 7 izolatów bakteryjnych było niewrażliwych na wszystkie fagi.

Na podstawie przeprowadzonych badań *in vitro* wykazano, że szczepy *E. coli* wyizolowane z kału są wrażliwe na bakteriofagi obecne w tym środowisku. Wyselekcjonowane fagi mogą posłużyć do opracowania preparatu do zwalczania zakażeń bakteryjnych na fermach. Oczekiwanym skutkiem fagoterapii jest poprawa zdrowotności ptaków, szybsze przyrosty masy ciała przy lepszym wykorzystaniu paszy, a w konsekwencji obniżenie kosztów produkcji, poprawa bezpieczeństwa oraz jakości produktów drobiowych.

Słowa kluczowe: bakteriofagi, *Escherichia coli*, drób

Characterization of bacteriophages specific for *Escherichia coli* isolated from poultry and evaluation of their lytic properties

The aim of the study was to isolate and characterize the morphology of bacteriophages specific for *E. coli*. and to evaluate their lytic properties.

The study was conducted on 96 *E. coli* strains whose antibiotic susceptibility was determined by the microplate method on the basis of MIC values. Bacteriophages were isolated using chicken faeces and their presence was confirmed by the double-layer plate method. The phage titre was determined by serial dilutions of the phage lysate in TM buffer. Morphological analysis of the phages was performed using TEM. The host range of the phages for the *E. coli* strains was determined by analysing the presence of plaques resulting from the lytic activity of the phage on double-layer plates with an *E. coli* culture.

Analysis of antibiotic resistance showed that 100% of the *E. coli* strains were resistant to enrofloxacin and 61.4% to ciprofloxacin. The bacteria also showed high resistance to ampicillin (83.3%) and amoxicillin (81.2%). Over half the isolates tested were resistant to tetracycline (64.5%). Resistance to gentamicin and chloramphenicol were least frequent.

Thirty-four phages of the order *Caudovirales* were obtained, and on the basis of their morphological structure they were classified as belonging

to the families *Myoviridae* and *Siphoviridae*. The phages isolated exhibited lytic activity against 89 strains of *E. coli*, while 7 bacterial isolates were resistant to all phages.

The *in vitro* study showed that the *E. coli* strains isolated from faeces were susceptible to bacteriophages present in this environment. The phages selected could be used to develop a preparation for combating bacterial infections on farms. Phage therapy is expected to result in improved health in birds, faster weight gain and better feed conversion, thereby lowering production costs and improving the safety and quality of poultry products.

Keywords: bacteriophages, *Escherichia coli*, poultry

Charakterystyka białka opiekuńczego ClpB (Hsp100) pochodzącego z patogennej bakterii *Leptospira interrogans*, czynnika etiologicznego leptospirozy

Joanna Krajewska, joanna.krajewska@biotech.ug.edu.pl, Katedra Biochemii Ogólnej i Medycznej, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, www.biology.ug.edu.pl

Zbigniew Arent, zarent@ar.krakow.pl, Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, www.wet.ur.krakow.pl

Anna Modrak-Wójcik, ankam@biogeo.uw.edu.pl, Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki Doświadczalnej, Wydział Fizyki, Uniwersytet Warszawski, www.biogeo.uw.edu.pl

Daniel Więckowski, wieckowski.dan@gmail.com, Katedra Biochemii Ogólnej i Medycznej, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, www.biology.ug.edu.pl

Agnieszka Bzowska, abzowska@biogeo.uw.edu.pl, Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki Doświadczalnej, Wydział Fizyki, Uniwersytet Warszawski, www.biogeo.uw.edu.pl

Sabina Kedzierska-Mieszkowska, sabina.kedzierska-mieszkowska@biol.ug.edu.pl, Katedra Biochemii Ogólnej i Medycznej, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, www.biology.ug.edu.pl

Bakterie *Leptospira interrogans* należą do krętków wywołujących u ssaków leptospirozę. Molekularne mechanizmy wirulencji *Leptospira* spp. są słabo poznane. Stosunkowo niedawno wykazano, że białko opiekuńcze ClpB jest niezbędne dla przeżywalności *L. interrogans* w warunkach stresu oraz podczas infekcji. Celem naszych badań było zgłębienie wiedzy na temat roli białka ClpBLi, a przede wszystkim poznanie jego biochemicznych i immunogennych właściwości. W pracy badano zdolność ClpBLi do tworzenia oligomerów z zastosowaniem ultrawirowania analitycznego, stymulację aktywności ATPazowej ClpBLi przez pseudosubstraty, aktywność dezagregacyjną ClpBLi oraz jego oddziaływanie z agregatami białkowymi i immunoreaktywność. Wykazano, że: (1) ATPgammaS indukuje powstawanie heksamerów ClpBLi; (2) ClpBLi

wykazuje słabą aktywność ATPazy stymulowaną przez pseudosubstraty; (3) ClpBLi wykazuje aktywność opiekuńczą niezależną od systemu Hsp70/40; (4) wiązanie nukleotydu zmienia powinowactwo ClpBLi do substratu. Analizy Western-blotting i ELISA wykazały, że ClpBLi może aktywować układ immunologiczny gospodarza. Świadczy o tym znacząco podwyższony poziom przeciwciał anti-ClpBLi w surowicach zwierząt zakażonych *Leptospira* w porównaniu z grupą kontrolną. Wyniki nasze sugerują, że specyficzna rola ClpBLi podczas infekcji może być powiązana z jego funkcją białka opiekuńczego i reaktywacją zagregowanych białek. Immunologiczne właściwości ClpBLi wskazują na jego udział w wirulencji *Leptospira*, co może mieć znaczenie diagnostyczne.

Słowa kluczowe: białko opiekuńcze, *Leptospira interrogans*, wirulencja

Characterization of the molecular chaperone ClpB (Hsp100) from the pathogenic bacterium *Leptospira interrogans*, the etiologic agent of leptospirosis

Leptospira interrogans is a spirochaete responsible for leptospirosis in mammals. The molecular mechanisms of the *Leptospira* virulence remain mostly unknown. Recently, it has been demonstrated that *L. interrogans* ClpB (ClpBLi) is essential for bacterial survival under stress and also during infection. The aim of this study was to provide further insight into the role of ClpB in *L. interrogans* and explore its biochemical and immunological properties. The oligomerization capacity by sedimentation velocity, ATPase activity, chaperone activity, substrate binding of ClpBLi and also its immunoreactivity with the sera collected from *Leptospira*-infected animals and uninfected healthy controls were examined. We found that: (1) ATPgammaS induces the formation of ClpBLi hexamers; (2) ATPase activity of ClpBLi is weak but is stimulated by the presence of pseudosubstrates; (3) ClpBLi is able to mediate protein disaggregation independently from the Hsp70/40 co-chaperones; (4) in the absence of nucleotides ClpBLi has an affinity for the aggregated substrate, which decreases upon nucleotide binding. Western-blotting and ELISA demonstrated that ClpBLi activates the host immune system, as evidenced by an increased level of antibodies against ClpBLi

in the sera of infected animals. Our results indicate ClpB's importance during infection due to its role as a molecular chaperone, involved in reactivation of protein aggregates. The immunological properties of ClpBLi point to its involvement in the pathogenicity of *Leptospira* and may translate into diagnostic applications.

This work was supported by the Preludium Grant number 2015/17/N/NZ6/03493 (to JK) from the National Science Center (Poland).

The analytical ultracentrifugation experiments were performed in the NanoFun laboratories co-financed by the European Regional Development Fund within the Innovation Economy Operational Programme, Project No. POIG.02.02.00-00-025/09

Keywords: molecular chaperone, *Leptospira interrogans*, virulence

Identyfikacja symbiontów bakteryjnych nicieni entomopatogennych *Steinernema* spp.

Marcin Skowronek, marskow@kul.pl, Laboratorium Biokontroli, Produkcji i Aplikacji EPN, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, www.kul.pl

Ewa Sajnaga, esajnaga@kul.pl, Laboratorium Biokontroli, Produkcji i Aplikacji EPN, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, www.kul.pl

Waldemar Kazmierczak, wklublin@tlen.pl, Laboratorium Biokontroli, Produkcji i Aplikacji EPN, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, www.kul.pl

Adrian Wiater, adrianw2@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Mikrobiologii Przemysłowej, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Nicienie entomopatogenne z rodzaju *Steinernema* stanowią grupę bytujących w glebie bezkręgowców, które mogą być wykorzystywane w biologicznych metodach zwalczania szkodliwych owadów. Tworzą one związki mutualistyczne z bakteriami z rodzaju *Xenorhabdus*. Larwy inwazyjne nicieni, zdolne do aktywnego poszukiwania żywiciela, wewnątrz ciała owada uwalniają bakterie, które produkują szereg toksyn oraz enzymów, powodujących śmierć owada w ciągu 24-48 godzin i przekształcających jego tkanki w środowisko optymalne do rozwoju nicieni.

Celem przedstawionych badań była izolacja oraz identyfikacja symbiontów bakteryjnych pochodzących z trzech szczepów *Steinernema* spp. pozyskanych z terenu Lubelszczyzny.

Pozycję taksonomiczną i relacje filogenetyczne trzech izolatów bakteryjnych ustalono poprzez porównawczą analizę sekwencji genów 16S rDNA i serC. Do charakterystyki molekularnej dołączono także analizę fenotypową wykorzystującą testy API. Uzyskane wyniki badań jednoznacznie wskazują, że badane szczepy należą do gatunku *Xenorhabdus bovienii*, wykazującego zdolność wchodzenia w symbiozę z wieloma

gatunkami nicieni z rodzaju *Steinernema*. Identyfikacja i charakterystyka bakterii związanych z entomopatogenicznymi nicieniami jest ważnym etapem w poznawaniu ich ewolucji oraz wzajemnych relacji mutualistycznych.

Słowa kluczowe: filogeneza, *Xenorhabdus bovienii*, *Steinernema*

Identification of bacterial symbionts of entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp.

Entomopathogenic nematodes of the genus *Steinernema* are a group of soil roundworms used as effective biocontrol agents against numerous insect pests. These organisms form a mutualistic association with bacteria of the genus *Xenorhabdus*. Infective juveniles, the only free-living stage in the life cycle of these nematodes, after entering an insect release mutualistic bacteria from their gut. These bacteria begin to synthesize a number of toxins and enzymes which usually cause the death of the insect within approximately 24-48 hours and prepare an optimal environment for the growth and reproduction of the nematodes.

The aim of this research was the isolation and identification of bacterial strains associated with three *Steinernema* spp. strains derived from the Lubelszczyzna region.

The taxonomic position and phylogenetic relationship of bacterial strains were established by the comparative analysis of 16S rRNA and serC gene sequences. The molecular identification was supported by phenotypic characterization of the bacteria using API tests. This polyphasic approach clearly indicated that all tested strains belong to *Xenorhabdus bovienii*. These bacteria appear to be most promiscuous among *Xenorhabdus* associating with many *Steinernema* species. Characterization of bacteria specific for entomopathogenic nematode is an important step to study this mutualistic association and may shed more light on bacterial evolution.

Keywords: phylogeny, *Xenorhabdus bovienii*, *Steinernema*

Mikrobiota drożdżowa fermentacji wybranych późnych odmian kapusty głowiastej białej (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*)

Szymon Strnad, s.strnad@ur.krakow.pl, Katedra Technologii
Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej, Wydział Technologii
Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kollątaja w Krakowie,
www.wtz.ur.krakow.pl

Paweł Satora, p.satora@ur.krakow.pl, Katedra Technologii
Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej, Wydział Technologii
Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kollątaja w Krakowie,
www.wtz.ur.krakow.pl

Niniejsza praca skupiona jest wokół mikrobioty drożdżowej występującej w trakcie procesu fermentacji kapusty (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*). Warzywa wykorzystane w badaniach zostały wybrane z odmian późnych kapusty, obecnych na rynku w okresie wykonywania badań.

Fermentacja była prowadzona przez okres dwóch tygodni w 20°C. Główki kapusty zostały poszatkowane na paski o grubości 35 mm, ułożone w garnkach kamionkowych, zasypane 2,5% w/w soli i ugniatane w naczyniach do chwili wypuszczenia soku.

W trakcie fermentacji, w dniach 0., 1., 2., 3., 4., 7., 10. i 14. pobierane było 3 cm³ odcieku do zamrożenia oraz celem wykonania posiewów mikrobiologicznych na podłożu Sabouraud agar z chloramfenikolem do oceny ilościowej mikrobioty drożdżowej.

Podczas zliczania narosłych kolonii, wybrane z nich przeszczepiane były na skosy z agarem Sabouraud, w celu wykonania analiz molekularnych. Analiza PCR-RAPD umożliwiła selekcję różniących się izolatów. Wśród wyizolowanych kultur stwierdzono obecność 36 różnych szczepów. Porównanie uzyskanych wzorów elektroforetycznych z bazą danych umożliwiło zaklasyfikowanie ich do rodzajów *Saccharomyces*, *Pichia*, *Metschnikowia*, *Hanseniasspora*, *Rhodotorula* i *Candida*. W kolejnym etapie przewiduje się ich dalsze charakteryzowanie metodami RFLP-PCR i sekwencjonowania.

Słowa kluczowe: mikrobiota, drożdże, kiszona kapusta, fermentacja, PCR-RAPD

Yeast microbiota of selected late white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) cultivars fermentation

This paper concentrates on yeast microbiota of the white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) fermentation. Vegetables used for the investigation were picked from the selection of late cabbage cultivars present on the market in the time of the research.

Fermentation was conducted for two weeks in the temperature of 20°C. Cabbage heads were shredded into 35 mm stripes, laid in stoneware vessels, covered with 2,5% w/w NaCl and pressed down in the vessels to release the juice.

On the 0th, 1st, 2nd, 3rd, 7th, 10th, and 14th day of fermentation 3 cm³ of the brine was sampled for starting microbiological cultures on the solid Sabouraud with Chloramphenicol medium, in order to carry out quantitative analysis of yeast microbiota.

During counting of the grown colonies, selected ones were cultured on Sabouraud agar slopes to conduct molecular analyses. PCR-RAPD analysis enabled selection of various isolates. Among the isolated cultures 36 various strains were detected. Comparing obtained electrophoretic patterns with models allowed for identifying following genus: *Saccharomyces*, *Pichia*, *Metschnikowia*, *Hanseniaspora*, *Rhodotorula*, *Candida*. The next scheduled step includes further analyses by RFLP-PCR and genotyping.

Keywords: microbiota, yeasts, sauerkraut, fermentation, PCR-RAPD

Ocena cytotoksyczności biogennych nanocząstek srebra na modelu komórkowym *in vitro*

Karolina Rudnicka, rudnicka@biol.uni.lodz.pl, Katedra Immunologii
i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki

Marek Składanowski, marekskladanowski@gmail.com, Zakład
Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet
Mikołaja Kopernika w Toruniu

Patrycja Golińska, golinska@umk.pl, Zakład Mikrobiologii, Wydział
Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Marcin Włodarczyk, martini.w@wp.pl, Katedra Immunologii
i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki

Sylwia Michlewska, sylwiam@biol.uni.lodz.pl, Pracownia
Obrazowania Mikroskopowego i Specjalistycznych Technik
Biologicznych, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet
Łódzki

Wojciech Kropiwnicki, wojciech.kropiwnicki@protonmail.com,
Student II roku Ilo kierunku Mikrobiologia, Wydział Biologii
i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Estera Jachowicz, Studentka II roku Ilo kierunku Mikrobiologia,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki,

Małgorzata Małopolska, Studentka II roku Ilo kierunku
Mikrobiologia, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet
Łódzki

Marta Krzyżaniak, Studentka II roku Ilo kierunku Mikrobiologia,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Marta Kuc, Studentka II roku Ilo kierunku Mikrobiologia, Wydział
Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Paulina Lalewicz, Studentka II roku Ilo kierunku Mikrobiologia,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Magdalena Mikołajczyk-Chmiela, *chmiela@biol.uni.lodz.pl*, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Problem narastającej antybiotykooporności drobnoustrojów, sprawia, że coraz częściej potencjalnych rozwiązań leczenia zakażeń doszukuje się w nanotechnologii, w tym w bionanocząstkach metali wytwarzanych przez mikroorganizmy. Poprzednio wykazano wysoki potencjał przeciwdrobnoustrojowy biogenych nanocząstek srebra (bAgNP) uzyskanych z hodowli promieniowca glebowego. Ewentualne zastosowanie bAgNP wymaga wykluczenia ich działania cytotoksycznego. Celem niniejszych badań było określenie aktywności cytotoksycznej bAgNP względem standardowej linii fibroblastów mysich L929 poprzez ocenę ich żywotności w teście redukcji MTT, spójności monowarstwy komórkowej oraz zmian w ich morfologii przy użyciu mikroskopii konfokalnej po uprzednim znakowaniu jąder (DAPI) i błon komórkowych (DiOC) komórek traktowanych różnymi stężeniami bAgNP. Biogenne AgNP w stężeniach 100, 50 i 25 μg/mL wywołały istotny spadek żywotności fibroblastów, odpowiednio do 31.2±6.5%, 55.7±6.1% oraz 82.9±7.5%, któremu towarzyszyła utrata konfluencji monowarstwy komórkowej, odpowiednio 31±4.7%, 68±7.2% i 72.3±9.1%. Wartość IC50 wyliczona w programie GraphPad wynosiła 64.5 μg/mL. Zarówno żywotność komórek, jak i integralność monowarstwy komórek inkubowanych z bAgNP w stężeniu poniżej 10 μg/mL nie zmieniała się, jednak powyżej dawki 5 μg/mL obserwowano spadek intensywności świecenia jąder komórkowych i gromadzenie skondensowanej chromatyny na ich brzegach, co może świadczyć o zachodzących zmianach apoptotycznych.

Badania wykonane w ramach Pracowni z Techniki Obrazowania Mikroskopowego dla studentów II r. studiów Ilo kierunku Mikrobiologia Wydziału BiOŚ UŁ.

Słowa kluczowe: nanocząstki srebra, promieniowce, cytotoksyczność, mikroskopia konfokalna, fibroblasty

The cytotoxicity of the biogenic silver nanoparticles evaluated in cell culture *in vitro* model

The problem of an increasing antibiotic resistance in microorganisms, stimulate researchers to search for new solutions to treat infections. The utility of biogenic silver nanoparticles (bAgNP) seem to be a promising solution. Previously it was demonstrated that bAgNPs obtained from soil Actinomyces strains exhibit antimicrobial activity. Any substance with future pharmacological application should be examined for its biosafety on the cellular level. The aim of this study was to determine the influence of bAgNPs on: 1) cell viability of mouse fibroblasts L929 by MTT reduction assay, 2) confluency of cellular monolayer by inverted microscope observations, 3) changes in cellular morphology using confocal microscopy after labeling the nuclei (DAPI) and cell membranes (DiOC). Biogenic AgNP at concentrations of 100, 50 and 25 $\mu\text{g/ml}$ caused a significant decrease in viability of fibroblasts, corresponding to $31,2\pm 6,5\%$, $55,7\pm 6,1\%$ and $82,9\pm 7,5\%$, accompanied by a loss of confluency of cell monolayer to $31\pm 4,7\%$, $68\pm 7,2\%$ and $72,3\% \pm 9,1\%$, respectively. The IC₅₀ value calculated in GraphPad Software was $64,5 \mu\text{g/mL}$. Both cell viability and integrity of the cell monolayer incubated with bAgNPs at concentrations below $10\mu\text{g/mL}$ were not affected, however the study based on confocal microscopy showed that the dosage of $5\mu\text{g/mL}$ induced the decrease in the intensity of nuclei fluorescence and accumulation of condensed chromatin at their edges, which may be indicative of ongoing apoptotic changes.

These results were obtained during the Laboratory of microscopic techniques for students of Microbiology (II y., Ilo master studies) at the Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz.

Keywords: silver nanoparticles, Actinomyces, cytotoxicity, confocal microscopy, fibroblasts

Ocena skuteczności zakonserwowania kosmetyku wg normy ISO 11930 – analiza przypadku

Piotr Nowaczyk, pnowaczyk@hamilton.com.pl,

Laboratorium Badania Kosmetyków i Chemii Gospodarczej, J.S. Hamilton S.A.,
www.hamilton.com.pl

Kamila Korzekwa, kamila.korzekwa@uwr.edu.pl,

Zakład Mikrobiologii Instytutu Genetyki i Mikrobiologii Wydziału Nauk
Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego, www.uwr.edu.pl

Test skuteczności i ocena zakonserwowania produktu kosmetycznego jest jednym z kryteriów jego oceny bezpieczeństwa. Spełnienie tego wymogu umożliwia bezpieczne stosowanie kosmetyku i chroni przed możliwym skażeniem drobnoustrojami w trakcie jego użytkowania. Celem pracy było przeprowadzenie testu skuteczności zakonserwowania balsamu do ciała w terminie jego przydatności do użycia. Materiałem do badań był losowo wybrany, pozyskany komercyjnie, balsam do ciała o pojemności 250 ml, w terminie jego przydatności do użycia. Produkt był oryginalnie zapakowany, bez śladów użycia, a jego element dozujący był dodatkowo zabezpieczony przed otwarciem folią termozgrzewalną. Ocenę zakonserwowania produktu kosmetycznego przeprowadzono zgodnie z metodyką opisaną w normie ISO 11930 dla produktów kosmetycznych wobec *P. aeruginosa*, *S.aureus*, *E.coli*, *Candida albicans* i *Aspergillus brasilliensis*. Uzyskane wyniki porównano z kryteriami skuteczności konserwacji wg normy ISO. Badania wykazały, że obecny w kosmetyku układ konserwujący – fenoksyetanol i etyloheksylogliceryna skutecznie działał jedynie wobec bakterii, ale nie był skuteczny wobec drożdży i pleśni. Ocena wyników uzyskanych badań wskazuje jednoznacznie na obniżoną skuteczność zastosowanego w kosmetyku układu konserwującego, powodując skażenie mikrobiologiczne badanego produktu.

Słowa kluczowe: test konserwacji, norma ISO 11930

Evaluation of the efficacy of cosmetic preservation according to ISO 11930 – the analysis of the case

Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product is one of the criteria for the safety assessment. This requirement allows the safe use of cosmetic and protect against possible microbial contamination during use. The aim of the study was to evaluate the efficacy of conservation body lotion within its suitability for use. The product testing was randomly selected, acquired commercially, body lotion 250 ml, within its shelf life. The product was originally packed, without signs of use, and the dispensing element was additionally secured before the opening of a heat-sealable foil. The evaluation of preservation of cosmetic product was carried out according to the method described in ISO 11930 for cosmetic products against *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* and *A.brasiliensis*. Results were compared with the efficiency criteria according ISO standard. Studies have shown, that the current in the cosmetic preservative system - phenoxyethanol and ethylhexylglycerine effectively acted only against bacteria, but was not effective against yeast and mold. Assessment of the obtained results clearly show reduced efficiency used in the cosmetic preservative system, causing microbial contamination of the tested product.

Keywords: challenge test, ISO 11930 standard

Polimorfizm genomowy symbiontów *Lembotropis nigricans* metodami BOX-PCR, ERIC-PCR i AFLP

Magdalena Wójcik, *magdalena.wojcik@poczta.umcs.lublin.pl*, Zakład Genetyki i Mikrobiologii UMCS w Lublinie

Sylvia Wdowiak-Wróbel, *s.wdowiak@poczta.umcs.lublin.pl*, Zakład Genetyki i Mikrobiologii UMCS w Lublinie

Michał Kalita, *Michal.kalita@poczta.umcs.lublin.pl*, Zakład Genetyki i Mikrobiologii UMCS w Lublinie

Monika Marek-Kozaczuk, *Monika.kozaczuk@poczta.umcs.lublin.pl*, Zakład Genetyki i Mikrobiologii UMCS w Lublinie

Sebastain Gnat, *sebastian.gnat@up.lublin.pl*, Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy Lublin

Wanda Małek, *wanda.malek@poczta.umcs.lublin.pl*, Zakład Genetyki i Mikrobiologii UMCS w Lublinie

Ryzobia to bakterie glebowe zdolne do wiązania azotu atmosferycznego w mutualistycznej interakcji z roślinami bobowatymi. Do identyfikacji ryzobiów niezbędne są wysoce efektywne metody ich różnicowania. Należą do nich takie techniki jak: BOX-PCR, ERIC-PCR i AFLP. Przedmiotem badań były symbionty rośliny bobowatej *Lembotropis nigricans* (szczodrzyk czerniejący), a celem określenie ich stopnia zróżnicowania genomowego w oparciu o profile DNA uzyskane powyższymi metodami. Wykorzystując technikę BOX-PCR z dwudziestojedno-nukleotydowym starterem komplementarnym do sekwencji powtórzonych w genomie bakterii uzyskano wzory DNA specyficzne dla 21 spośród 33 szczepów badanych. Technika bardziej różnicującą ryzobia specyficzne dla *L. nigricans* była metoda ERIC-PCR wykorzystująca dwa 21-nukleotydowe startery komplemetarne do, tzw. „enterobakteryjnych między-genowych sekwencji konsensusowych powtórzonych” w genomie bakterii. W reakcji amplifikacji zidentyfikowano szczepowo specyficzne wzory DNA dla 29 badanych symbiontów. Technika o największej sile genomowego różnicowania badanych bakterii okazała się metoda AFLP z selektywnym starterem Pst-GC. 31 spośród 33 izolatów wykazało

charakterystyczne tylko dla siebie profile DNA. Łączna analiza wzorów DNA uzyskanych metodą AFLP ze starterem Pst-GC i ERIC-PCR pozwala identyfikować wszystkie symbionty *L. nigricans*.

Słowa kluczowe: ryzobia, polimorfizm genomowy

Genomic polymorphism of *Lembotropis nigricans* symbionts by BOX-PCR, ERIC-PCR, and AFLP

Soil bacteria collectively called rhizobia are capable to induce the formation of root nodules on fabacean plants where atmospheric nitrogen is fixed and reduced to ammonia available to host plant. Rhizobium-fabacean interaction is economically and ecologically important because of the production of food, forage, and enrichment of soil in nitrogen. We assessed the genomic diversity of 33 symbionts of *Lembotropis nigricans* (commonly called black broom) by tree methods based on the polymerase chain reaction, i.e. BOX-PCR, ERIC-PCR, and AFLP. The AFLP technique with Pst-GC selective primer had comparable discriminatory power to ERIC-PCR one and these fingerprinting methods distinguished 31 and 29 genotypes among 33 strains studied, respectively. BOX-PCR technique was less discriminatory in the genomic differentiation of analyzed *L. nigricans* nodulators and it resolved 21 genotypes. Combined analysis of genomic DNA profiles obtained by using AFLP and ERIC-PCR methods allows to identify and differentiate all studied black broom symbionts.

Keywords: rhizobia, genomic polymorphism

Porównanie jakości mikrobiologicznej i sensorycznej miódów wielokwiatowych pochodzących z Polski i Tajlandii

Beata Madras-Majewska, *beata_madras_majewska@sggw.pl*,
Pracownia Pszczelnictwa SGGW w Warszawie

Elżbieta Rosiak, *elzbieta_rosiak@sggw.pl*, Zakład Higieny
i Zarządzania Jakością Żywności, SGGW w Warszawie

Danuta Jaworska, *danuta_jaworska@sggw.pl*, Zakład Higieny
i Zarządzania Jakością Żywności, SGGW w Warszawie

Celem pracy było porównanie jakości mikrobiologicznej i sensorycznej wielokwiatowych miódów polskich i tajlandzkich. Materiał badawczy stanowiły miody krajowe (3 próby) i miody z Tajlandii (3 próby). Wszystkie miody z obydwu krajów pozyskano od pszczelarzy w 2013 roku. Wybrane miody badano w kierunku: ogólnej liczby drobnoustrojów (OLD), bakterii z rodzaju *Bacillus* spp. oraz drożdży i pleśni. Do oceny jakości mikrobiologicznej wybrano referencyjną metodę płytkową. Badania sensoryczne składały się z trzech części: a) badania ankietowe, b) sensoryczne badania konsumenckie, c) sensoryczne badania laboratoryjne. Analizy mikrobiologiczne próbek miódów potwierdziły dobrą jakość mikrobiologiczną badanych prób. Ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych mezofilnych jak również liczba mezofilnych bakterii *Bacillus* spp. znajdowały się poniżej dopuszczalnych kryteriów mikrobiologicznych dla produktów pszczelich. W sensorycznym badaniu konsumenckim wykazano że trzy miody polskie i jeden miód tajlandzki oceniono jako najbardziej pożądane. Zastosowana metoda profilowania sensorycznego pozwoliła na określenie przyczyn preferencji konsumenckich uzyskanych w badaniu hedonicznym.

Słowa kluczowe: miód, jakość mikrobiologiczna, właściwości sensoryczne, preferencje konsumenckie

Comparison of microbiological and sensory quality of Polish and Thailand multifloral honeys

A comparison of microbiological and sensory quality of Polish and Thailand multifloral honeys was the objective this paper. The study material consisted of domestic honeys (3 samples) and honeys from Thailand (3 samples). The selected honeys were tested for the total number of aerobic mesophilic microorganisms, bacteria of the genus *Bacillus* spp., yeasts and moulds. The reference plate method was chosen for the assessment of microbiological quality. The sensory testing consisted of three parts: a) questionnaire study b) consumer sensory test c) laboratory sensory test. The microbiological analyses of multifloral honey samples confirmed the good microbiological quality of tested honey samples. The total number of aerobic mesophilic microorganisms and also the number of mesophilic bacteria of the species *Bacillus* spp. were less than the permissible microbiological criteria for bee products. A consumer sensory test showed a variable quality of the honey samples tested. Three samples of domestic multifloral honeys and one sample of imported honey were assessed as the most attractive honeys. The applied method of sensory profiling has enabled precise information to be obtained on the reasons for consumers' preferences identified during hedonic test.

Keywords: honey, microbiological quality, sensory properties, consumers, preferences

Porównanie skuteczności preparatów antyseptycznych na bazie kationowego środka antyseptycznego

Kamila Szostak, *kamila.szostak@pwr.edu.pl*, Katedra Inżynierii Biomedycznej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław; Lipid Systems Langner Przybyło Sp. J., ul. Klecińska 125, 54-413 Wrocław

Magdalena Przybyło, *magdalena.przybylo@pwr.edu.pl*, Katedra Inżynierii Biomedycznej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław; Lipid Systems Langner Przybyło Sp. J., ul. Klecińska 125, 54-413 Wrocław

Marek Langner, *marek.langner@pwr.edu.pl*, Katedra Inżynierii Biomedycznej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław; Lipid Systems Langner Przybyło Sp. J., ul. Klecińska 125, 54-413 Wrocław

Dichlorowodorek oktenidyny, został po raz pierwszy zsyntezowany w latach 80' XX wieku, w konsekwencji poszukiwania substancji alternatywnej dla diglukonianu chlorheksydyny (GChCl) w zakresie antyseptyki jamy ustnej. Szerokie spektrum działania, stwierdzona niewielka penetracja w głąb organizmu oraz brak wyindukowanej oporności przez metycyliny- oraz wankomycyno-oporne szczepy *Staphylococcus aureus* stały się głównymi czynnikami rozpowszechnienia preparatów na bazie oktenidyny, zarówno w praktyce szpitalnej, jak i produktach przeznaczonych dla gospodarstw domowych. Popularnym, komercyjnie dostępnym środkiem zawierającym ten związek jest Octenisept® (0,1% dichlorowodorek oktenidyny, 2% fenoksyetanol), jednak ze względu na drażniące działanie fenoksyetanolu, odchodzi się od stosowania go w preparatach farmaceutycznych i szuka nowych możliwości. Świetnym rozwiązaniem problemu jest zastosowanie naturalnie występujących struktur biologicznych, jako nośników substancji aktywnej (oktenidyny). Są nimi agregaty lipidowe – liposomy.

Podczas sesji przedstawiona zostanie analiza porównawcza skuteczności preparatu oferowanego przez firmę Schulke (Oktenisept®) z nowym produktem firmy Lipid Systems opartym o formulację liposomową chlorowodoru oktenidyny. Analizę przeprowadzono w oparciu o metodę

rozcieńczenia-neutralizacji proponowaną przez normę zharmonizowaną PN-EN 13727+A1 z 2013 roku.

Słowa kluczowe: dichlorowodorek oktenidyny, Octenisept®, antyseptyk

Comparison of the effectiveness of antiseptic-based cationic compounds

Octenidine dihydrochloride was at first synthesized in the 80' XX, as a result of searching some alternative compound for chlorhexidine digluconate (GChCl), within of antiseptics of the oral cavity.

Broad spectrum of activity, found little penetration into the body, as well as lack of induced resistance by metacyclino- and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, have become major factors in the prevalence of preparations based on octenidine, both in hospital practice, as well as products for households.

A popular, commercially available composition containing octenidine dihydrochloride is a Octenisept® (0.1% octenidine dihydrochloride, 2% phenoxyethanol). Pharmacy found out irritating effect of phenoxyethanol and it is important to move it away from pharmaceutical preparations and looking for new opportunities. A great solution to the problem is to use naturally occurring biological structures, as carriers of the active substance (octenidine) - lipid aggregates, liposomes.

During the session, comparative analysis of the efficacy both offered by Schulke (Oktenisept®) and a new product of Lipid Systems based on the liposomal formulation of octenidine hydrochloride will be presented. The analysis was prepared follow by method of dilution-neutralization proposed by the harmonized standard EN 13727 + A1 (2013).

Keywords: octenidine dihydrochloride, Octenisept®, antiseptic

**Właściwości cytotoksyczne i immunomodulujące
preparatu ecomer(r)
zawierającego standaryzowany, oczyszczony olej
z wątroby rekina grenlandzkiego**

Karolina Rudnicka, rudnicka@biol.uni.lodz.pl, Katedra Immunologii
i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki

Eliza Mnich, elizamis88@wp.pl, Katedra Immunologii i Biologii
Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Katarzyna Kołodziejska, kkolodziejska@krotex.pl, 2Krotex Pharm Sp.
z o. o. Sp. K

Marcin Włodarczyk, martini.w@wp.pl, Katedra Immunologii
i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki

Łucja Balcerzak, lbalcer@biol.uni.lodz.pl, Pracownia Obrazowania
Mikroskopowego i Specjalistycznych Technik Biologicznych, Wydział
Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Adrian Bekier, adrian_bekier@outlook.com, Student II roku IIo
kierunku Mikrobiologia, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki

Julia Burzyńska, Studentka II roku IIo kierunku Mikrobiologia,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Katarzyna Wijatkowska, Studentka II roku IIo kierunku Mikrobiologia,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Mateusz Judził, Student II roku IIo kierunku Mikrobiologia, Wydział
Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Daria Gonsior, Studentka II roku IIo kierunku Mikrobiologia, Wydział
Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Justyna Kamińska, Studentka II roku IIo kierunku Mikrobiologia,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Magdalena Głaczyńska, Studentka II roku IIo kierunku Mikrobiologia,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Samanta Gawłowska, Studentka II roku Ilo kierunku Mikrobiologia,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki,

Magdalena Mikołajczyk-Chmiela, chmiela@biol.uni.lodz.pl, Katedra
Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony
Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Olej uzyskiwany z wątroby rekina grenlandzkiego zawiera wysokie dawki lipidów o przypuszczalnym działaniu wzmacniającym naturalną, wrodzoną odporność organizmu tj. alkoksyglicerole. Celem badań była ocena właściwości cytotoksycznych oraz immunostymulujących oczyszczonego oleju z wątroby rekina grenlandzkiego w standardowym teście redukcji MTT na rekomendowanej linii fibroblastów mysich L929 oraz na modelu komórek linii monocytarno-makrofagowej THP1XBlue CellsTM. Uzyskane wyniki wskazują na brak właściwości cytotoksycznych standaryzowanego oleju z wątroby rekina grenlandzkiego względem fibroblastów mysich w warunkach *in vitro*. Preparat użyty w postaci nierozcieńczonej (100%) nie wpływał na żywotność komórek, która pozostawała na poziomie hodowli nietraktowanych, ale wywierał wpływ na ich morfologię i zdolność adhezji co zaobserwowano w mikroskopie konfokalnym. Wykazano, że standaryzowany olej z wątroby rekina grenlandzkiego nierozcieńczony oraz w rozcieńczeniach 1% i 10% pobudza komórki THP-1xBlueCellsTM: preparat nierozcieńczony odpowiednio o 1298% preparatu w rozcieńczeniu 10% o 580% i preparat w stężeniu 1% o 615% względem kontroli nietraktowanej. Aktywacji monocytów wywołanej badanym olejem zarówno nierozcieńczonym jak i w stężeniach 1%, i 10% towarzyszył wzrost stężenia TNF- α zarówno przez komórki traktowane nierozcieńczonym preparatem ($51,3 \pm 11,2$ pg/ml) lub użytym w stężeniu 10% ($239,7 \pm 18,3$ pg/ml).

Badania wykonane w ramach Pracowni z Techniki Obrazowania Mikroskopowego dla studentów II r. studiów Ilo kierunku Mikrobiologia Wydziału BiOŚ UŁ.

Słowa kluczowe: Ecomer, olej z wątroby rekina, cytotoksyczność, odporność, monocyty, cytokiny

Cytotoxic and immunostimulatory activity of ecomer(r) – a supplement containing standardized sharks liver oil

Shark liver oil (SLO), with a standardized concentration of alkylglycerols and their methoxyderivates, has been widely used in Scandinavian countries as complementary medicine. The aim of this study was to evaluate the potential cytotoxic and immunostimulating activity of this biologic compound: in a standard MTT reduction assay on the recommended mouse fibroblasts L929, as well as confocal microscopy and monocyte-macrophage THP1XBlueCells™, respectively.

The obtained results indicate that undiluted SLO has no cytotoxic effect on fibroblasts *in vitro*. The SLO used in undiluted form had no effect on cell viability, which remained at the level of the untreated culture, however confocal microscopy techniques revealed that it has an effect on their morphology and adhesion ability, which was observed as lower percentage of cells able to adhere as well as loss in nuclei fluorescence. It has been shown that SLO used in undiluted form and at dilutions of 1% and 10% (in 99,8% ethanol) stimulate THP-1xBlueCells™, in comparison to untreated cultures (100%): undiluted SLO: 1,298%, 10% SLO: 580% and 1% SLO to 615%. Induced activation of monocytes mediated by SLO, both undiluted and in concentrations of 1% and 10% was accompanied by the increase in TNF- α to a level of $51,3 \pm 11,2$ pg/ml and $239,7 \pm 18,3$ pg/ml), respectively. In conclusion SLO has no cytotoxic effect *in vitro* and it exhibit immunostimulatory potential, however the changes observed in confocal microscopy stimulate for further research.

These results were obtained during the Laboratory of microscopic techniques for students of Microbiology (II y., Ilo master studies) at the Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz.

Keywords: Ecomer, shark liver oil, cytotoxicity, immunity, monocytes, cytokines

**Wpływ probiotyku
zawierającego *Enterococcus faecium*
na status immunologiczny
oraz obraz histologiczny i mikrobiologiczny
jelita czczego kurcząt**

Ewelina Cholewińska, ewelina.cholewinska@mailplus.pl, Katedra Biochemii i Toksykologii, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl

Katarzyna Ognik, kasiaognik@poczta.fm, Katedra Biochemii i Toksykologii, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl

Tomasz Wodyk, tomek674@poczta.onet.pl, Sekcja Chemii Fizjologicznej i Toksykologii Studenckiego Koła Naukowego Biologów i Hodowców Zwierząt; Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl

Aleksandra Wojewoda, olaa138@wp.pl, Sekcja Chemii Fizjologicznej i Toksykologii Studenckiego Koła Naukowego Biologów i Hodowców Zwierząt; Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl

Daniel Stępniewski, daniel-ste@wp.pl, Sekcja Chemii Fizjologicznej i Toksykologii Studenckiego Koła Naukowego Biologów i Hodowców Zwierząt; Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl

Celem badań było ustalenie czy i w jaki sposób dawka oraz czas aplikowania probiotyku zawierającego żywe kultury *Enterococcus faecium* oraz wit. C i D wpływa na obraz histologiczny i mikrobiologiczny jelita oraz odporność kurcząt.

Doświadczenie przeprowadzono za zgodą Lokalnej Komisji Etyki ds Doświadczeń na Zwierzętach na 400 szt. 1-dniowych kurcząt Ross 308 przydzielonych do 5 grup doświadczalnych (80 szt. każda). Grupa kontrolna nie otrzymywała dodatku probiotyku. Grupy E-250(T1) i E-100(T1) otrzymywały probiotyk z wodą pitną odpowiednio w dawce 250 g/1000l i 100 g/1000l przez cały okres 42-dniowej hodowli. Grupy E-250(T2) i E-100(T2) z kolei otrzymywały analogiczne dawki probiotyku jedynie

w 1-7, 15-21 i 29-35 dniach życia. 42 dnia życia od kurcząt pobrano krew do badań immunologicznych oraz jelito czcze wraz z treścią pokarmową do badań mikrobiologicznych i histologicznych.

Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że podawanie kurczętom probiotyku w dawce 250 g/1000 l wody przez cały okres tuczu najefektywniej obniżyło całkowitą liczbę grzybów, bakterii tlenowych oraz bakterii z grupy *coli* w treści pokarmowej jelita, jak również pozytywnie wpłynęło na zwiększenie długości kosmków i krypt jelita czczego. Ponadto probiotyk stosowany w dawce 250 g/1000 l wody przez cały okres tuczu istotnie zwiększył aktywność lizozymu i zawartość IgA oraz obniżył zawartości IL-6 w surowicy krwi względem kontroli, tym samym najefektywniej stymulując nieswoistą odporność kurcząt.

Słowa kluczowe: probiotyk, *Enterococcus faecium*, kurczęta, immunologia, profil mikrobiologiczny

The influence of probiotic with *Enterococcus faecium* on immunology status, histology and microbiological profile of the jejunum in chickens

The aim of the study was to determine whether and how the dose and duration of administration of probiotic containing live cultures of *Enterococcus faecium* and vit. C and D affects the histological and microbiological resistance and intestines of chickens.

The experiment was conducted with the approval of the Local Ethics Committee for Experiments on Animals on 400 pieces. 1-day-old chickens Ross 308 assigned to five experimental groups (80 pcs. each). The control group did not receive probiotic supplement. Groups E-250 (T1) and E-100 (T1) received probiotic with drinking water, respectively at a dose of 250 g/1000l and 100g/1000l throughout the 42-day period of rearing. Groups E-250 (T2) and E-100 (T2) received a similar dose of prebiotic only 1-7, 15-21 and 29-35 days of life. From 42 day old chicks took the blood samples for immunoassay and jejunum with the content for microbiological and histological exams.

Based on the obtained results it was found that feeding chickens a probiotic at a dose of 250 g/1000 l of water throughout the fattening period most

effectively reduced the total number of fungi, aerobic bacteria and coliform bacteria in the food bowel, as well as a positive impact on increasing the length of villi and crypts jejunum. Moreover, the probiotic applied at a rate of 250 g/1000 liters of water throughout the fattening period significantly increased the activity of lysozyme and IgA content and a reduced content of IL-6 in the serum compared to control group, thereby most effectively stimulating nonspecific immunity chickens.

Keywords: probiotic, *Enterococcus faecium*, chickens, immunology, microbiology profile

Występowanie genu tonB wśród patogennych izolatów *Haemophilus influenzae* pobranych od pacjentów laryngologicznych

Edyta Chwiejczak, edytachwiejczak@interia.pl, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie; www.umlub.pl

Urszula Kosikowska, urszula.kosikowska@umlub.pl, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie; www.umlub.pl

Sylwia Andrzejczuk, sylwia.andrzejczuk@umlub.pl, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie; www.umlub.pl

Haemophilus influenzae jest składnikiem mikrobiota układu oddechowego i patogenem zdolnym do wychwytu i aktywnego transportu żelaza i/lub hemu przez błonę zewnętrzną zależnego od białka TonB kodowanego przez gen tonB. Celem badania było wykazanie obecności genu tonB wśród *H. influenzae* izolowanych z migdałków i nosogardzieli od pacjentów laryngologicznych z nawracającymi infekcjami górnych dróg oddechowych.

Badaniem objęto 136 izolatów *H. influenzae* uzyskanych od pacjentów pediatrycznych z nawracającymi infekcjami układu oddechowego, zakwalifikowanych do zabiegu adenoidektomii. Izolaty pochodziły z wymazów pobranych z nosogardzieli (39/136, 29%) oraz z fragmentów migdałków (97/136, 71%). Identyfikację i biotypowanie izolatów wykonywano z użyciem pasków API NH (BioMerieux). Gen tonB (813 bp) identyfikowano w reakcji PCR z użyciem starterów Ton1 (5'-GCAAGCACAACAAGTGCAGCTAA-3') oraz Ton2 (5'-GCCGCCTTATCTAAACTTTCATCG-3').

Zgodnie z uzyskanymi wynikami, 118/136 (87%) izolatów *H. influenzae* wykazywało obecność genu tonB. Głównie były to izolaty należące do biotypu I, II oraz III. Występowanie genu tonB było obserwowane wśród 83/97 (86%) izolatów pochodzących z migdałków oraz 35/39 (90%) z nosogardzieli. Nawracające infekcje w obrębie górnych dróg oddechowych u pacjentów pediatrycznych mogą być związane z występowaniem bakterii *H. influenzae* wykazujących obecność genu tonB.

Słowa kluczowe: *Haemophilus influenzae*, gen tonB, infekcje górnych dróg oddechowych

Occurrence of tonB gene in pathogenic isolates of *Haemophilus influenzae* collected from laryngological patients

Haemophilus influenzae is a part of respiratory microbiota and important pathogen able to specific uptake and active transport of iron and/or heme through the cell membrane. Bacterial adhesion to hemoglobin, heme and/or iron-bound transferrin as well as uptake and transport of this element depends on TonB protein determined by tonB gene. The aim of this study was to present a prevalence of tonB gene in *H. influenzae* isolates collected from tonsils and nasopharynx of patients with recurrent upper respiratory tract infections.

The study included 136 isolates of *H. influenzae* selected from pediatricians with recurred upper respiratory tract infections, qualified to adenoidectomy. Isolates were obtained from nasopharyngeal swabs (39/136, 29%) and from adenoid samples (97/136, 71%). Identification and biotyping were performed using the API NH microtest (BioMerieux). Gene tonB (813 bp) was identified in PCR reaction using Ton1 (5'-GCAAGCACAACAAGTGCAGCTAA-3') and Ton2 (5'-GCCGCCTTATCTAAACTTTCATCG-3') primers.

According to our results, 118/136 (87%) of *H. influenzae* isolates showed a presence of tonB gene. Majority of isolates were assigned to I, II and III biotype. Presence of tonB gene was observed in 83/97 (86%) and 35/39 (90%) isolates collected from adenoids and nasopharyngeal samples, respectively. Occurrence of tonB gene among *H. influenzae* isolates can be connected with pathogenicity of in pediatric patients recurrent upper respiratory tract infections.

Keywords: *Haemophilus influenzae*, tonB gene, upper respiratory tract infections

Znaczenie wybranych lizyn bakteriofagowych w leczeniu antybiotykoopornych zakażeń bakteryjnych

Monika Karasiewicz, karasiewiczmonika@gmail.com, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, www.sggw.pl

Urszula Szkop, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, www.sggw.pl

Lizyny to bakteriofagowe, wysoko wyspecjalizowane enzymy hydrolizujące peptydoglikan w ścianie komórkowej bakterii. Każda z lizyn ma określoną aktywność enzymatyczną i działa na jedno z czterech głównych wiązań w peptydoglikanie. Dodanie nawet niewielkiej ilości oczyszczonej, rekombinowanej lizyny do zawiesiny komórek bakterii Gram – dodatnich skutkuje natychmiastową lizą tych komórek, a co za tym idzie również ich śmiercią. Lizyny wykazują wysoką swoistość wobec określonego gatunku lub szczepu bakterii. Ich działanie testowano na modelach zwierzęcych w celu zwalczania patogenów opornych na antybiotyki znajdujących się na powierzchni błon śluzowych oraz w zainfekowanych tkankach. Lizyny wykazują specyficzność wobec patogenu bez zakłócania normalnej mikroflory. Jednocześnie charakteryzują się szybkim działaniem, a prawdopodobieństwo nabycia oporności bakterii na lizynę jest niskie. W związku z tym lizyny stwarzają nowe możliwości w walce z zakażeniami bakteryjnymi i stają się alternatywą dla antybiotyków.

Słowa kluczowe: lizyny fagowe, peptydoglikan, aktywność lityczna, antybiotykooporne bakterie

The importance of selected bacteriophage lysins in the treatment of antibiotic resistant bacterial infections

Lysins are highly evolved enzymes produced by bacteriophage, that hydrolase peptidoglycan in the bacterial cell wall. Each of the lysins has a specific enzymatic activity and acts on one of the four major bonds in the peptidoglycan. In gram-positive bacteria, small quantities of purified

recombinant lysin added externally results in immediate lysis causing death of the target bacterium. Lysins have been used successfully in a variety of animal models to control pathogenic antibiotic resistant bacteria found on mucosal surfaces and infected tissues. Lysins are highly specific with respect to certain species, subspecies or strains of bacteria. Lysins have an advantage over antibiotics because they only kill their target pathogens without disturbing the natural microflora. Additionally, they act quickly and the probability that bacteria acquire resistance to a lysine is low. Therefore, lysins open new opportunities in the fight against bacterial infections and become an alternative to antibiotics.

Keywords: phage lysins, peptidoglycan, lytic activity, antibiotic resistant bacteria

Indeks autorów

Abramczyk B.	36	Kedzierska-Mieszkowska S.	56
Andrzejczak O.	49	Kołodziejska K.	74
Andrzejczuk S.	80	Kosikowska U.	80
Arent Z.	56	Krajewska J.	56
Balcerzak Ł.	74	Kropiwnicki W.	63
Bekier A.	74	Krzyżaniak M.	63
Biedroń I.	40	Kuc M.	63
Biesiadecka M.	25	Kutryn E.	23
Burzyńska J.	74	Lalewicz P.	63
Bzowska A.	56	Langner M.	72
Cania B.	31	Listos P.	27
Chojniak J.	40	Łobocka M.	13
Cholewińska E.	27, 77	Łyszcz M.	29
Chwiejczak E.	80	Madras-Majewska B.	70
Dec M.	53	Malm A.	15
Depciuch J.	25	Małek W.	68
Gałązka A.	19, 21, 29	Małopolska M.	63
Gawłowska S.	75	Marek-Kozaczuk M.	68
Gawryjolek K.	19	Marzec M.	38
Gebler I.	38	Michlewska S.	63
Głaczyńska M.	74	Mikołajczyk-Chmiela M. ..	64, 75
Gmitrzuk N.	43	Mnich E.	74
Gnat S.	53, 68	Modrak-Wójcik A.	56
Golińska P.	63	Nowaczek A.	53
Gonsior D.	74	Ognik K.	27, 77
Grabowska A.	23	Płaza G.	40
Grata K.	47	Powałowski S.	31, 38
Grządziel J.	21	Przybyło M.	72
Jach M.	51	Rosiak E.	70
Jachowicz E.	63	Rudnicka K.	63, 74
Jakubczak K.	33	Sajnaga E.	51, 59
Jałowicki Ł.	40	Satora P.	61
Janusz G.	23	Składanowski M.	63
Jaworska D.	70	Skowronek M.	59
Judził M.	74	Solarska E.	38
Kalita M.	68	Stępniewski D.	77
Kamińska J.	74	Strnad S.	61
Kania M.	33	Szkop U.	82
Karasiewicz M.	82	Szostak K.	72
Kazimierczak W.	59	Szymanowska-Powałowska D.	31

Śliwa P.	25	Wodyk T.	77
Świątek M.	31, 38	Wojewoda A.	77
Urban-Chmiel R.	53	Wojtyczka R. D.	33
Wąsik T. J.	33	Wołęjko E.	43
Wdowiak-Wróbel S.	68	Wójcik M.	68
Wiater A.	59	Wydro U.	43
Więckowski D.	56	Zawiła T.	33
Wijatkowska K.	74	Zdunek B.	51
Włodarczyk M.	63, 74		