


# Eko Bio Tox

Krajowa Konferencja EkoBioTox

**Znaczenie ekotoksykologii, bioindykacji, biodegradacji  
w identyfikacji i rozwiązywaniu problemów środowiskowych  
w dobie antropocenu i zmiany klimatu  
od skali molekularnej do krajobrazowej**

Łódź, 19–21 kwietnia 2023 r.

**KSIĘGA ABSTRAKTÓW**

 **WYDAWNICTWO  
UNIwersYTETU  
ŁÓDZKIEGO**



## KSIĘGA ABSTRAKTÓW

**Krajowa Konferencja EkoBioTox**

Znaczenie ekotoksykologii, bioindykacji, biodegradacji  
w identyfikacji i rozwiązywaniu problemów  
środowiskowych w dobie antropocenu i zmiany klimatu  
od skali molekularnej do krajobrazowej

## BOOK OF ABSTRACTS

**The National EcoBioTox Conference**

The importance of ecotoxicology, bioindication,  
biodegradation in identifying and solving environmental  
problems in the era of the Anthropocene and climate  
change from the molecular to the landscape scale

Łódź, 2023 r.

Konferencja w wersji stacjonarnej

Stationary conference

<https://ekobiotoxpolska.wixsite.com/lodz>

[www.bioindykator.pl](http://www.bioindykator.pl)

<https://www.facebook.com/KonferencjaBioindykacyjna/>

AUTOR GRAFIKI  
Małgorzata Łapińska

LOGOTYP EKOBIOТОX  
zaprojektowano z wykorzystaniem darmowej wersji grafiki: <a href="https://www.freepik.com/free-vector/3d-earth-graphic-symbolizing-global-trade-illustration\_14803736.htm">Image by liuzishan</a> on Freepik

KOLAŻ ZE ZDJĘĆ  
zaprojektowano z wykorzystaniem zdjęcia pakietu edukacyjnego UŁ – Microsoft 365 (Power Point)

SKŁAD I ŁAMANIE  
AGENT PR

© Copyright by Authors, Łódź 2023  
© Copyright for this edition by Uniwersytet Łódzki, Łódź 2023

<https://doi.org/10.18778/8331-193-7>

Wydane przez Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego  
Wydanie I. W.11048.23.0.K

Ark. wyd. 11,5; ark. druk. 24,5

e-ISBN 978-83-8331-193-7

Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego  
90-237 Łódź, ul. Jana Matejki 34A  
[www.wydawnictwo.uni.lodz.pl](http://www.wydawnictwo.uni.lodz.pl)  
e-mail: [ksiegarnia@uni.lodz.pl](mailto:ksiegarnia@uni.lodz.pl)  
tel. 42 635 55 77

## Organizatorzy / Organisers

Katedra UNESCO Ekohydrologii  
i Ekologii Stosowanej UŁ



Katedra Mikrobiologii  
Przemysłowej i Biotechnologii



Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii  
pod auspicjami UNESCO Polskiej Akademii Nauk



Zachodniopomorski Uniwersytet  
Technologiczny w Szczecinie



Tigret



Gdański Uniwersytet Medyczny



## Partner Konferencji / Conference Partner

Centrum Nauki i Techniki



## Patronat Honorowy / Honorary Patronage

Prezydent Miasta Łodzi



Patronat Rektora  
Uniwersytetu Łódzkiego



Patronat Rektora  
Uniwersytetu Łódzkiego

Wydział Biologii  
i Ochrony Środowiska



Komitet Biotechnologii  
PAN



Polska Akademia Nauk



Polskie Towarzystwo  
Mykologiczne



## Sponsorzy / Sponsors

Komisja „Gleba a Zdrowie Człowieka”  
Polskie Towarzystwo Gleboznawcze

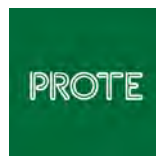
Tigret



Promega



Prote



A&A Biotechnology



## Patronat Medialny / Media Patronage

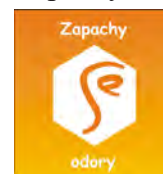
Świat wody



Biotechnologia



Zapachy – Odory



Nauka Dla Przyrody



Laboratorium



## Od organizatorów

*Szanowni Państwo, Koleżanki i Koledzy, Uczestnicy I konferencji EkoBioTox,*

Konferencja EkoBioTox jest kontynuacją cyklicznej Krajowej Konferencji Bioindykacyjnej, która odbywała się w latach 2011-2021, w różnych miastach. Od 2023 zapraszamy Państwa do uczestnictwa w nowej odsłonie wydarzenia, związanej z umiejscowieniem konferencji na stałe w Łodzi, a przede wszystkim rozszerzeniem tematyki o zagadnienia degradacji, biotransformacji zanieczyszczeń, aspektów istotnych dla poszukiwania optymalnych rozwiązań dla poprawy jakości środowiska w dobie antropocenu i zmiany klimatu.

Celem EkoBioTox jest promowanie najnowszych osiągnięć naukowych oraz zwiększanie wiedzy i kompetencji poprzez prezentację wyników badań, dyskusję oraz wymianę doświadczeń. W wystąpieniach ustnych i plakatowych uwzględniono aspekty wykorzystania szerokiego spektrum narzędzi bioindykacyjnych w monitoringu jakości środowiska i zdrowia człowieka od skali molekularnej do krajobrazowej. Drugim ważnym elementem konferencji jest prezentacja wszelkich rozwiązań biotechnologicznych oraz działań prowadzących do biodegradacji, bioremediacji zanieczyszczeń, aspektów istotnych dla poszukiwania optymalnych rozwiązań m.in. opartych na przyrodzie (ang. NBS – nature-based solutions).

Wiodącymi tematami konferencji są:

1. Zastosowanie biotestów oraz metod biologicznych do monitoringu i oceny jakości środowiska oraz szacowania ryzyka środowiskowego i zdrowotnego.
2. Wykorzystanie mikroorganizmów oraz narzędzi molekularnych w badaniach ekotoksykologicznych, w tym: oznaczanie mutagenności i genotoksyczności, oznaczanie aktywności enzymatycznej i hormonalnej, markery genetyczne dla systemów wczesnego ostrzegania.
3. Zastosowania systemów bioindykacyjnych w praktycznej analizie i ocenie toksyczności ścieków, wód powierzchniowych i podziemnych, osadów i substancji w fazie stałej oraz w powietrzu – wyzwania w dobie antropopresji i zmiany klimatu.
4. Biodegradacja i detoksykacja zanieczyszczeń pochodzenia antropogenicznego i naturalnego.
5. Bioremediacja skażonych środowisk wodnych i glebowych.
6. Administracyjne i prawne aspekty wykorzystywania metod bioindykacyjnych i biotestów.
7. Procedury oceny ryzyka w zarządzaniu środowiskiem.

Mamy nadzieję, że konferencja EkoBioTox pozwoli na dalszą integrację środowisk naukowych, instytucji związanych z ochroną środowiska i praktyków wykorzystujących pozyskiwaną wiedzę i opracowywane rozwiązania.

Dziękujemy za przyjęcie zaproszenia i obecność na I konferencji EkoBioTox

Komitet Naukowy i Organizacyjny

## From Organisers

*Dear Colleagues, Participants of the 1<sup>st</sup> EcoBioTox Conference,*

The EcoBioTox Conference is a continuation of the cyclical National Bioindication Conference, which was held from 2011 to 2021, in different cities. From 2023, we would like to invite you to participate in a new edition of the venue, connected with the location of the conference permanently in Lodz, and, first of all, with the extension of the subject matter to include the issues of degradation, biotransformation of pollutants, aspects relevant to the search for optimal solutions for improving the quality of the environment in the era of the Anthropocene and climate change.

The aim of EcoBioTox is to promote the newest scientific achievements and to increase knowledge and competence through presentation of research results, discussion and exchange of experiences. Oral and poster presentations cover aspects of the use of a broad spectrum of bioindication tools in monitoring of the quality of the environment and human health from the molecular to the landscape scale. A second important element of the conference is the presentation of any biotechnological solutions and activities leading to biodegradation, bioremediation of pollutants, aspects relevant to the search for optimal nature-based solutions (NBS).

The leading themes of the conference are:

1. The use of bioassays and biological methods for monitoring and assessment of environmental quality and estimation of environmental and health risks.
2. The use of microorganisms and molecular tools in ecotoxicological studies, including: mutagenicity and genotoxicity determination, enzyme and hormone activity determination, genetic markers for early warning systems.
3. Applications of bioindication systems in the practical analysis and toxicity assessment of wastewater, surface and groundwater, sediment and substances in the solid phase and in the air – challenges in times of anthropopression and climate change.
4. Biodegradation and detoxification of pollutants of anthropogenic and natural origin.
5. Bioremediation of contaminated water and soil environments.
6. Administrative and legal aspects of the use of bioindication and bioassay methods.
7. Risk assessment procedures in environmental management.

We hope that the EcoBioTox conference will allow further integration of scientific communities, environmental institutions and professionals using the knowledge acquired and developed solutions.

Thank you for accepting the invitation and your attendance at the 1<sup>st</sup> EcoBioTox Conference

Scientific and Organising Committee

### **Komitet naukowy konferencji / Scientific committee of the conference**

Prof. dr hab. Jerzy Długoński (Uniwersytet Łódzki)  
Prof. dr hab. Katarzyna Lisowska (Uniwersytet Łódzki)  
Prof. dr hab. Joanna Mankiewicz-Boczek, (Uniwersytet Łódzki; Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii PAN)  
Prof. dr hab. Grzegorz Nałęcz-Jawecki (Warszawski Uniwersytet Medyczny)  
Prof. dr hab. Patryk Oleszczuk (Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie)  
Prof. dr hab. Grażyna Płaza (Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych; Politechnika Śląska)  
Prof. dr hab. inż. Joanna Surmacz-Górska (Politechnika Śląska)  
Prof. dr hab. inż. Arkadiusz Telesiński (Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie)  
Prof. dr hab. Lidia Wolska (Gdański Uniwersytet Medyczny)  
Dr hab. Aleksander Astel, prof. AP (Akademia Pomorska w Słupsku)  
Dr hab. Robert Biczak, prof. UJD (Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. J. Długosza w Częstochowie)  
Dr hab. Tomasz Jurczak, prof. UŁ (Uniwersytet Łódzki)  
Dr hab. inż. Katarzyna Piekarska, prof. PW (Politechnika Wrocławska)  
Dr hab. Magdalena Urbaniak, prof. ERCE/UŁ (Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii PAN; Uniwersytet Łódzki)  
Dr inż. Agnieszka Klimkowicz-Pawlas (Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa PIB w Puławach)

### **Komitet organizacyjny / Organizing committee**

Tomasz Jurczak, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej UŁ  
Katarzyna Lisowska, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii UŁ  
Joanna Mankiewicz-Boczek, ERCE PAN, Łódź; Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej UŁ  
Lidia Wolska, Gdański Uniwersytet Medyczny, Zakład Toksykologii Środowiskowej  
Arkadiusz Telesiński, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa  
Grzegorz Piętowski, TIGRET Sp. z o.o., Warszawa

### **Komitet lokalny / Local committee**

Adrianna Wojtal-Frankiewicz, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej UŁ  
Małgorzata Łapińska, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej UŁ  
Magdalena Urbaniak, ERCE PAN, Łódź; Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej UŁ  
Mariusz Krupiński, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii UŁ  
Sebastian Szklarek, ERCE PAN, Łódź  
Anna Szelest, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej UŁ  
Marta Nowak-Lange, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii UŁ  
Monika Nowak, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii UŁ  
Tomasz Grzyb, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej UŁ



## Czasopismo konferencji

Wybrane prezentacje pokonferencyjne będą opublikowane w specjalnym numerze czasopisma **Ecohydrology & Hydrobiology** (IF = 2,957, 100 pkt) poświęconemu konferencji EkoBioTox.



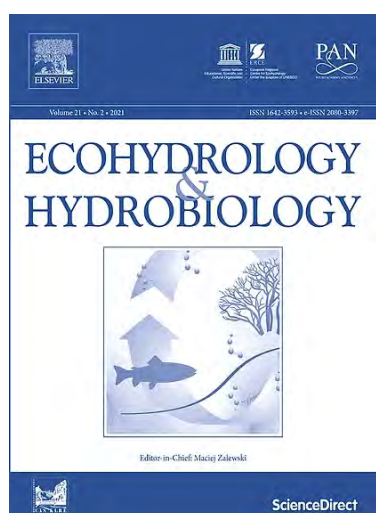
**Ecohydrology & Hydrobiology** to międzynarodowe czasopismo, którego celem jest rozwój ekohydrologii jako nauki o wzajemnym oddziaływaniu procesów ekologicznych – obejmujących wszystkie elementy środowiska i hydrologicznych od skali molekularnej do skali dorzecza, a także promowanie jej wdrażania jako integracyjnego narzędzia zarządzania, harmonizującego potrzeby społeczne z potencjałem biosfery. W czasopiśmie publikowane są wysokiej jakości prace naukowe mające na celu pokazanie systemowego podejścia od monitoringu zagrożeń poprzez analizę kluczowych oddziaływań abiotycznych – biotycznych, po zagadnienia związane z opracowywaniem rozwiązań opartych na przyrodzie (ang. Nature-Based Solutions). Wiodące zagadnienia na naszej konferencji dotyczące roli ekotoksykologii, bioindykacji, biodegradacji w identyfikacji i rozwiązywaniu problemów środowiskowych

w dobie antropocenu i zmiany klimatu od skali molekularnej do krajobrazowej ściśle wpisują się w nurt czasopisma.

Strona czasopisma: <https://www.sciencedirect.com/journal/ecohydrology-andhydrobiology>

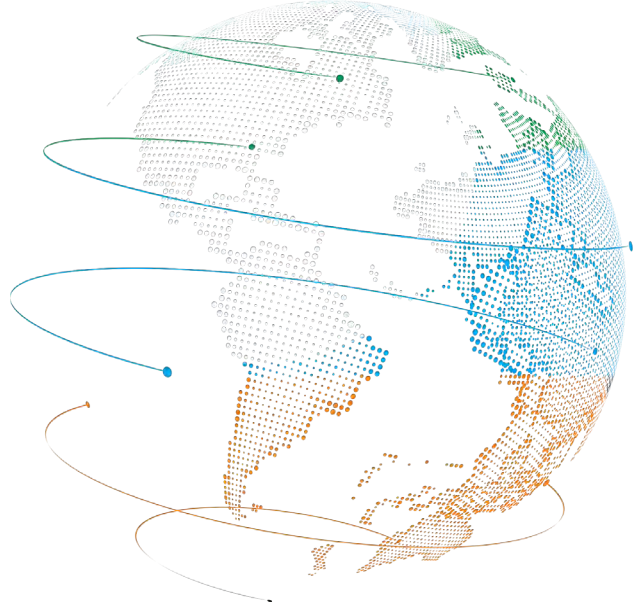
## Conference journal

Selected post-conference presentations will be published in a special issue of the journal of **Ecohydrology & Hydrobiology** (IF = 2.957, 100 pts) dedicated to the EcoBioTox conference.



**Ecohydrology & Hydrobiology** is an international journal that aims to advance ecohydrology as a science of the interplay of ecological processes – encompassing all elements of the environment and hydrology from the molecular to the river basin scale, and to promote its implementation as an integrative management tool that harmonizes societal needs with the potential of the biosphere. The journal publishes high-quality scientific papers aimed at demonstrating a systemic approach from threat monitoring through analysis of key abiotic – biotic impacts, to issues related to the development of Nature-Based Solutions. Leading issues at our conference on the role of ecotoxicology, bioindication, biodegradation in identifying and solving environmental problems in the era of the Anthropocene and climate change from the molecular to the landscape scale closely match the journal's focus.

Journal webpage: <https://www.sciencedirect.com/journal/ecohydrology-andhydrobiology>



Eko  
Bio  
Tox

**WYKŁADY PLENARNE**



## Europejski pakt dla zdrowych gleb i zdrowej żywności

**G. Siebielec**

*Institut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, ul. Czartoryskich 8, 24–100 Puławy, Polska  
e-mail: gs@iung.pulawy.pl*

Gleby stanowią bazę do produkcji żywności, retencjonują i oczyszczają wodę, są siedliskiem bioróżnorodności, która odpowiada za odporność ekosystemów na zmiany klimatyczne. Bez odpowiednio dużej puli produktywnych gleb przyszłość świata nie jest możliwa. Jednocześnie gleby są zasobem wrażliwym, znajdującym się pod stałą presją ze strony rolnictwa i urbanizacji. Coraz szersza dyskusja na poziomie europejskim dotycząca gleb i ich ochrony przyniosła ogłoszenie tzw. misji „*A Soil deal for Europe*” – europejskiej umowy prowadzącej do poprawy zdrowia gleb do 2030 roku. Referat dostarczy informacji na czym ma polegać przysłowiowy „deal”? Misja glebowa wprowadza również pojęcie zdrowia gleb. Coraz rzadziej stosuje się pojęcie żyzności gleby, która odnosiła się do roli gleby w rolniczej produkcji roślinnej. Pojęcia zdrowia gleby traktuje glebę jako pewnego rodzaju organizm połączonych ze sobą cech, o które należy zadbać by gleba odwdzińczyła się jej funkcjami.

## A European pact for healthy soils and healthy food

**G. Siebielec**

*Institute of Soil Science and Plant Cultivation, State Research Institute, Department of Soil Science, Erosion and Soil Protection, Czartoryskich 8, 24–100 Puławy, Poland  
e-mail: gs@iung.pulawy.pl*

Soils are the basis for food production, they retain and purify water, they are a habitat for biodiversity, which is responsible for the resistance of ecosystems to climate change. Without a sufficiently large pool of productive soils, the future of the world is not possible. At the same time, soils are a fragile resource under constant pressure from agriculture and urbanisation. The growing discussion at the European level regarding soils and their protection resulted in the announcement of “*A Soil deal for Europe*” – a European agreement aimed at improving soil health by 2030. The presentation provides information on what the proverbial “deal” is about? The soil mission also introduces the concept of soil health. The concept of soil fertility, which refers to the role of soil in agricultural plant production, is used less and less frequently. The concept of soil health treats the soil as a kind of organism of interconnected features, which should be taken care of so that the soil repays its functions.



## **Ciecze jonowe – nowa forma zanieczyszczenia w środowisku?**

**Ł. Chrzanowski**

*Zakład Chemii Organicznej, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska  
Berdychowo 4, 60–965 Poznań  
e-mail: lukasz.chrzanowski@put.poznan.pl*

*Słowa kluczowe: ciecze jonowe, biodegradacja, toksyczność*

Ciecze jonowe stały się przedmiotem zainteresowania szeregu dziedzin nauki. Ich popularność jest ogromna co przekłada się na tysiące prac naukowych na temat ich właściwości i zastosowań, publikowanych każdego roku. Co więcej, część z nich znalazła komercyjne zastosowania. O ile kwestia praktycznego wykorzystania cieczy jonowych jest stosunkowo dobrze poznana, o tyle ich losy środowiskowe są nadal zagadką. Czy w świetle obecnego stanu wiedzy możemy stwierdzić, że ta grupa związków jest nowym rodzajem zanieczyszczenia w środowisku? Czy ich obecność w wodzie i glebie generuje specyficzne wyzwania dla mikroorganizmów? Czy należą one do grupy tzw. „emerging contaminants”? W ramach referatu zaprezentowane zostaną wielopłaszczyznowe badania, które poprzez analizy między innymi biodegradacji, toksyczności, bioróżnorodności postarają się odpowiedzieć na postawione wyżej pytanie).

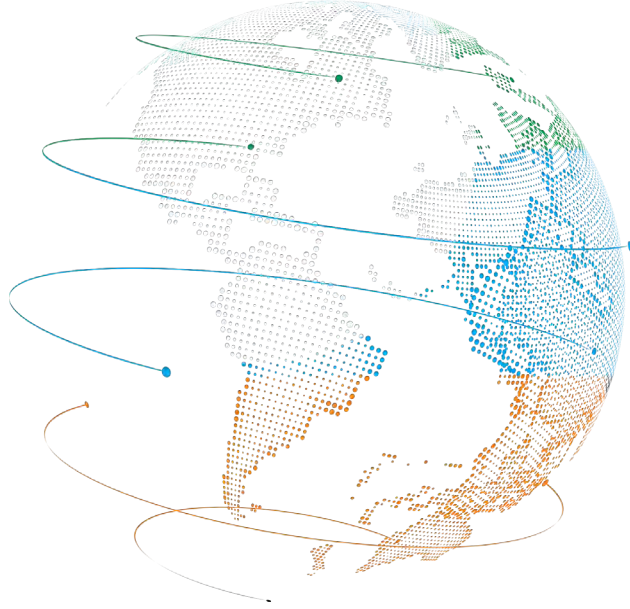
## **Ionic liquids – a new emerging pollutant in the environment?**

**Ł. Chrzanowski**

*Faculty of Chemical Technology, Poznan University of Technology, Berdychowo 4, 60–965 Poznan,  
Poland  
e-mail: lukasz.chrzanowski@put.poznan.pl*

*Keywords: ionic liquids, biodegradation, toxicity*

Ionic liquids have become the focus of a number of scientific fields. Their popularity is immense which translates into thousands of scientific reports on their properties and applications, published every year. Moreover, some of them have found commercial applications. While the question of the practical use of ionic liquids is relatively well understood, their environmental fate is still a mystery. In light of the current state of knowledge, can we conclude that this group of compounds is a new type of pollutant in the environment? Does their presence in water and soil generate specific challenges for microorganisms? Do they belong to the group of so-called “emerging contaminants”? The presentation will show multifaceted research that, through analyses of biodegradation, toxicity, biodiversity, among others, will try to answer the question posed above.



# Eko Bio Tox

WYKŁADY

## Ocena ekotoksyczności nowo syntetyzowanych związków zapachowych z klasy eterów oksymowych

L. Balcerzak<sup>1</sup>, A. Trusz<sup>2</sup>, D. J. Strub<sup>1</sup>, K. Piekarska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra Chemii Biologicznej i Bioobrazowania Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50–370 Wrocław

<sup>2</sup> Katedra Inżynierii Ochrony Środowiska Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50–370 Wrocław

e-mail: katarzyna.piekarska@pwr.edu.pl

*Słowa kluczowe:* smak, zapach, aldehydy, ketony, oksymy, etery oksymu, ekotoksyczność, *Daphnia magna*, *Alivibrio fischeri*, *Raphidocelis subcapitata*, *Spirodela polyrhiza*, *Salmonella typhimurium* TA 98 i TA100

Zgodnie z prawem Unii Europejskiej zwiększającym bezpieczeństwo chemiczne, konieczna jest rejestracja, ocena i udzielenie zezwolenia na obrót oraz wykorzystanie nowo powstałych substancji chemicznych. Aktem prawnym regulującym wprowadzanie nowych substancji na rynek jest Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (ang. *Registration, Evaluation, Authorisation of Chemicals*, REACH, 2007). Dzięki rozporządzeniu REACH pod kontrolą znalazły się substancje wprowadzone na rynek zarówno po, jak i przed 1981r.

Wprowadzanie nowo syntetyzowanych substancji chemicznych do użytku codziennego związane jest z oceną ich oddziaływania na środowisko i człowieka. Ze względów etycznych testy na zwierzętach są ograniczone. Dlatego do wstępnej oceny negatywnego działania substancji chemicznych są wykorzystywane badania przesiewowe *in vitro*. W latach 70. i 80. XX wieku opracowano wiele metod oceny toksyczności i genotoksyczności chemikaliów, co umożliwiło zapewnienie odpowiedniego poziomu bezpieczeństwa tych związków przez organy regulacyjne.

W ostatnich latach zauważono zwiększone zapotrzebowanie na substancje zapachowe i smakowe. Atrakcyjność danego związku często wpływa na zwiększone zainteresowanie produktem ze strony konsumentów. Głównym odbiorcą produktów zapachowych jest przemysł perfumeryjny. Jednak oprócz perfum, czy też wód toaletowych, występują również kosmetyki, których jednym z zadań, jest nadanie powierzchni na której zostaną zastosowane przyjemnego zapachu, dlatego też wiele z tych związków znalazło swoje zastosowanie w przemyśle spożywczym, farmacji, czy też chemii gospodarczej. Problemy środowiskowe mogą pojawić się wtedy, gdy tego typu związki przedostają się do ścieków w postaci lotnych związków organicznych (LZO). Nowo syntetyzowane związki zapachowe w pierwszej kolejności charakteryzuje się pod względem ich właściwości fizykochemicznych. Kolejnym etapem powinno być sprawdzenie ich właściwości toksycznych i ekotoksycznych.

Pomimo dużej liczby dostępnych związków zapachowych, pożądaną są nowe o ciekawych właściwościach zapachowych ze względu na ich potencjalnie wysoką wartość handlową. Idealnymi kandydatami na surowce wyjściowe do syntez nowych substancji smakowych i zapachowych są związki karbonylowe. Można je przekształcać w oksymy i etery oksymów, a badań skupiających się na ich właściwościach biologicznych jest niewiele.

W niniejszych badaniach określano potencjalny ekotoksyczny wpływ nowych substancji zapachowych z klasy eterów oksymowych, które zostały opracowane w Katedrze Chemii Biologicznej i Bioobrazowania Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej na bakterie

(*Alivibrio fischeri*), mikroalgi (*Raphidocelis subcapitata*), rośliny (*Spirodela polyrhiza*) oraz skorupiaki (*Daphnia magna*). Badano także potencjalne właściwości mutagenne tych związków w oparciu o krótkoterminowy test *Salmonella*. Według naszej najlepszej wiedzy jest to pierwsze opracowanie dotyczące ekotoksyczności niskocząsteczkowych eterów oksymowych.

Przebadano łącznie 24 substancje, w tym komercyjnie istotne aromaty i substancje zapachowe, oraz porównano toksyczność eterów i oksymów z toksycznością macierzystych związków karbonylowych. Toksyczność eterów oksymowych wahała się od toksyczności nieostrej (klasa I), słabo ostrej (klasa II), ostrej (klasa III), silnie ostrej (klasa IV) i bardzo ostrej (V). W większości przypadków toksyczność eterów oksymowych była podobna lub niższa niż toksyczność komercyjnie wykorzystywanych aromatów i substancji zapachowych. Najbardziej wrażliwymi organizmami były *A. fischeri* i *S. polyrhiza*, a wszystkie badane związki wykazywały wobec nich bardzo wysoką toksyczność ostrą. Wszystkie badane związki nie wykazywały działania mutagennego w stosunku do zastosowanych szczepów testowych *Salmonella typhimurium* TA 98 i TA100.

*Badania zostały sfinansowane ze środków programu LIDER Narodowego Centrum Badań i Rozwoju, „Synteza nowych związków zapachowych z surowców pochodzenia naturalnego do zastosowań w perfumerii, kosmetyce i chemii gospodarczej” (SYNFRA); numer grantu: LIDER/4/0099/L-7/15/NCBR/2016.*



## Ecotoxicity assessment of newly synthesized fragrance compounds from the oxime ether class

L. Balcerzak<sup>1</sup>, A. Trusz<sup>2</sup>, D. J. Strub<sup>1</sup>, K. Piekarska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemical Biology and Bioimaging, Wrocław University of Science and Technology, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50–370 Wrocław, Poland

<sup>2</sup> Department of Environmental Protection Engineering, Faculty of Environmental Engineering, Wrocław University of Science and Technology, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, Wrocław, 50–370, Poland

katarzyna.piekarska@pwr.edu.pl

**Keywords:** flavour, fragrance, aldehydes, ketones, oximes, oxime ethers, ecotoxicity, *Daphnia magna*, *Alivibrio fischeri*, *Raphidocelis subcapitata*, *Spirodela polyrhiza*, *Salmonella typhimurium* TA 98 i TA100

In accordance with the European Union law increasing chemical safety, it is necessary to register, evaluate and grant authorization for the marketing and use of newly created chemical substances. The legal act regulating the introduction of new substances to the market is the Regulation of the European Parliament and Council on Registration, Evaluation, Authorization of Chemicals (REACH, 2007). The REACH regulation brought under control substances placed on the market both after and before 1981.

The introduction of newly synthesized chemical substances for everyday use is related to the assessment of their impact on the environment and humans. For ethical reasons, animal testing is limited. Therefore, *in vitro* screening tests are used to initially assess the negative effects of chemicals. In the 1970s and 1980s, many methods for assessing the toxicity and genotoxicity of chemicals were developed, which allowed regulators to ensure the appropriate level of safety of these compounds.

In recent years, an increased demand for fragrances and flavors has been noticed. The attractiveness of a given compound often results in increased consumer interest in the product. The main recipient of fragrance products is the perfume industry. However, in addition to perfumes or toilet waters, there are also cosmetics, one of the tasks of which is to give the surface on which they will be applied a pleasant smell, which is why many of these compounds have found their application in the food industry, pharmacy or household chemistry. Environmental problems can arise when these types of compounds enter wastewater as volatile organic compounds (VOCs). Newly synthesized fragrance compounds are first characterized by their physicochemical properties. The next step should be checking their toxic and ecotoxic properties.

Despite the large number of odoriferous compounds available, new ones with interesting olfactory characteristics are desired due to their potentially high commercial value. The ideal candidates for the raw starting materials for the synthesis of new flavours and fragrances are carbonyl compounds. They can be transformed into oximes and oxime ethers, and there are only a few studies that focus on their properties.

Potential ecotoxic effects were assessed in these studies of new potential fragrances of the oxime ether class that were developed at the Department of Chemical Biology and Bioimaging, Wrocław University of Science and Technology, on bacteria (*Alivibrio fischeri*), microalgae (*Raphidocelis subcapitata*), plant (*Spirodela polyrhiza*) and crustacean (*Daphnia magna*).



Potential mutagenic properties of these compounds were also investigated based on a short-term *Salmonella* test. To the best of our knowledge, this is the first report on the ecotoxicity of low-molecular-oxime ethers.

We have evaluated 24 compounds in total and compared the toxicity of oxime ethers to parental oximes and carbonyl compounds, including commercially exploited and relevant flavours and fragrances. The toxicity of the oxime ethers ranged from non-acute (class I), low-acute (class II), acute (class III), high-acute (class IV), and very high-acute toxicity (V). In most cases, the toxicity of oxime ethers was similar to or lower than the toxicity of commercially exploited flavours and fragrances. The most sensitive organisms were *A. fischeri* and *S. polyrhiza*, and all of the compounds showed very high acute toxicity toward it. All tested compounds did not show any mutagenic activity in relation to the *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA100 test strains used.

*This work was supported by the project “Synthesis of new fragrances from raw materials of a natural origin with application in perfumery, cosmetics, and household chemistry” (SYNFRA; LIDER Programme, LIDER/4/0099/L-7/15/NCBR/2016) financed by the National Centre for Research and Development – Poland.*



## **SYMBIO – bezobsługowy system wczesnego ostrzegania o zanieczyszczeniu wody**

**H. Białous**

*Kierownik Projektu ds. Badań i Ochrony Wód, PROTE Technologie dla Środowiska Sp. z o.o.,  
ul. Firlika 26, 60-692 Poznań  
e-mail: h.bialous@prote.pl*

*Słowa kluczowe: biomonitring, małże, SYMBIO, wczesne ostrzeganie*

System Biomonitringu SYMBIO jest to jedyny, dostępny na rynku w pełni zautomatyzowany i bezobsługowy, system monitorowania ujmowanej wody (on-line), zwiększający bezpieczeństwo pod względem ogólnej jej toksyczności. System Biomonitringu SYMBIO służy do ciągłej kontroli jakości wody ujmowanej. W naszym Systemie zastosowaliśmy małże słodkowodne – Skójkę zaostrzoną, których naturalną reakcją na nagłą, znaczną zmianę ogólnej toksyczności wody jest zamykanie muszli małża. Reakcja ta jest szybka i jednoznaczna – następuje zamknięcie muszli grupy małży. Dodatkową zaletą przemawiającą za ich wykorzystaniem na potrzeby skonstruowania bezobsługowego systemu zabezpieczenia ujęć, jest praktycznie osiadły tryb życia. Metody wykorzystujące organizmy żywe do oceny stanu środowiska zwane są metodami bioindykacyjnymi, a wykorzystywane organizmy bioindykatorami (organizmami wskaźnikowymi). Małże stosowane w systemie SYMBIO (Skójkę zaostrzoną – gatunek krajowy) spełniają wszystkie warunki stawiane organizmom wskaźnikowym: reagują szybko i jednoznacznie na nagłe zmiany w środowisku, ich reakcja (zamknięcie muszli) jest łatwa do zaobserwowania i zarejestrowania, a warunki i tryb życia pozwalają na ciągłe monitorowanie ich zachowań w warunkach laboratoryjnych. Reakcja małży nie dostarcza nam informacji o tym, co i w jakich ilościach znajduje się w wodzie, ale nagłe zamknięcie muszli sygnalizuje zmianę warunków w środowisku – parametrów wody – rozpoznaną przez nie za szkodliwą i niebezpieczną.

The SYMBIO Biomonitoring System is the only fully automated and maintenance-free system available on the market for monitoring intake water (on-line), increasing safety in terms of its overall toxicity. The SYMBIO biomonitoring system is used to continuously control the quality of intake water.

In our System, we used freshwater mussels – the pointed mussel, whose natural reaction to a sudden, significant change in the general toxicity of water is to close the mussel shells. This reaction is quick and unambiguous – the shells of a group of mussels are closed. An additional advantage in favor of their use for the purpose of constructing a maintenance-free intake security system is the practically sedentary lifestyle.

Methods using living organisms to assess the state of the environment are called bioindication methods, and the organisms used are bioindicators (indicator organisms). The mussels used in the SYMBIO system (Red mussel – domestic species) meet all the conditions for indicator organisms: they react quickly and unequivocally to sudden changes in the environment, their reaction (closing the shell) is easy to observe and record, and the conditions and lifestyle allow for continuous monitoring their behavior in laboratory conditions. The reaction of mussels does not provide us with information about what and in what quantities is in the water, but the sudden closure of the shell signals a change in environmental conditions – water parameters – recognized by them as harmful and dangerous.

## Adsorpcja wybranych farmaceutyków oraz toksyczność płytek grafenu o różnej funkcjonalizacji

A. Bogusz<sup>1</sup>, P. Oleszczuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Ekotoksykologii, Instytut Ochrony Środowiska PIB, ul. Krucza 5/11D, 00–548 Warszawa

<sup>2</sup> Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20–031 Lublin

e-mail: patryk.oleszczuk@mail.umcs.pl

Słowa kluczowe: nanocząstki, grafen, adsorpcja, farmaceutyki, toksyczność

Wśród nanomateriałów coraz bardziej na znaczeniu w ostatnich latach zyskują nanomateriały węglowe. Wykorzystywane są w wielu dziedzinach życia, co może prowadzić do ich przedostawania się do środowiska [1]. Wśród materiałów węglowych najbardziej popularne są nanorurki węglowe, choć w ostatnich latach na znaczeniu zyskują grafeny. Grafen posiada dwuwymiarową sześciokątną strukturę sieciową, która zapewnia mu niesamowitą stabilność i wytrzymałość [2]. Uwolnienie grafenów do środowiska może wystąpić podczas korzystania z materiałów, które je zawierają, ich przetwarzania, usuwania i przechowywania. Zakłada się, że główna część grafenów dostaje się do środowiska ze ściekami. To może powodować nie tylko bezpośredni wpływ tego typu nanocząstek na organizmy żywe ale również pośredni wpływ na mobilność/immobilizację innych zanieczyszczeń, co wcześniej dokumentowane było w przypadku nanorurek węglowych. Celem przeprowadzonych badań było określenie siły oddziaływania wybranych farmaceutyków (diklofenak – DCF, triklosan – TCS, naproksen – NPX i kofeina – CAF) z płytkami grafenu (GNP) o różnej funkcjonalizacji (neutralne, hydrofilowe, hydrofobowe i modyfikowane Zn). Badano również efekt toksyczny grafenów w stosunku do *Daphnia magna* i *Lemna minor*. Charakterystyka fizyczna i chemiczna obejmowała: analizę elementarną (C, H, N), ocenę powierzchni ( $S_{\text{BET}}$ , objętość porów, objętość i powierzchnia mikroporów oraz średnia średnica porów), spektroskopia FTIR i spektroskopia Ramanowska. Wszystkie badane związki wykazały stosunkowo szybką kinetykę adsorpcji na badanych GNP. Można było zaobserwować dwustopniową kinetykę adsorpcji DCF, NPX, TCS i CAF przez wszystkie badane GNP. Największym powinowactwem do badanych farmaceutyków charakteryzowały się neutralne płytki grafenu, wykazujące niejednokrotnie dwukrotnie większą adsorpcję niż pozostałe testowane płytki. Najsłabszym powinowactwem natomiast charakteryzowały się płytki grafenu modyfikowane grupami hydrofilowymi. Na podstawie uzyskanych wyników można założyć, że grupy tlenowe nie były kluczowe w wiązaniu badanych cząsteczek farmaceutyków przez GNP. Należy zauważyć, że zdolność adsorpcji (wyrażona jako  $q_{\text{exp}}$ ) wszystkich czterech farmaceutyków wykorzystanych w badaniach przez GNP była często wyższa niż dla różnych rodzajów adsorbentów węglowych podawanych w literaturze. Większość grafenów (GNP, GNP-Phyl, GNP-Phob) nie wykazywała toksycznego działania w stosunku do *D. magna* poniżej stężeń 10 mg/L. Dopiero przy najwyższej zastosowanej dawce (100 mg/L) stwierdzono istotny efekt toksyczny dla GNP (15%) i GNP-Phyl (5%). Jedynie w przypadku GNP-Zn obserwowano immobilizację *D. magna* już od najniższej zastosowanej dawki, która osiągnęła poziom 80% dla najwyższego testowanego stężenia. Toksyczność płytek grafenu w stosunku do *L. minor* była zróżnicowana jednak podobnie jak w przypadku *D. magna* najbardziej toksyczny okazał się GNP-Zn. Wyraźny efekt toksyczny zaznaczył się również w przypadku GNP-Phyl.

### *Podziękowania*

*Projekt otrzymał finansowanie z Europejskiej Rady Badań (ERC) w ramach programu badań i innowacji Unii Europejskiej w ramach Umowy Grant No Ga 699794.*

### **Literatura**

- [1] J.-C. Arnault, D. Eder, eds., Synthesis and applications of nanocarbons, First edition, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, 2020.
- [2] C. Lee, X. Wei, J.W. Kysar, J. Hone, Measurement of the Elastic Properties and Intrinsic Strength of Monolayer Graphene, Science. 321 (2008) 385–388. <https://doi.org/10.1126/science.1157996>

## Adsorption and toxicity of selected pharmaceuticals by graphene nanoplatelets with various functionalization

A. Bogusz<sup>1</sup>, P. Oleszczuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Ecotoxicology, Institute of Environmental Protection – National Research, Institute, ul. Krucza 5/11D, 00–548 Warszawa

<sup>2</sup> Department of Radiochemistry and Environmental Chemistry, Faculty of Chemistry, Maria 7 Curie-Skłodowska University, Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20–031 Lublin  
e-mail: patryk.oleszczuk@mail.umcs.pl

*Słowa kluczowe: nanocząstki, grafen, adsorpcja, farmaceutyki, toksyczność*

Carbon nanomaterials have gained more and more attention in recent years. They are used in many areas of life, which can lead to their entering the environment [1]. Among the carbon nanomaterials, carbon nanotubes are the most common, although in recent years graphenes have gained importance. Graphene has a two-dimensional hexagonal network structure that provides it with incredible stability and strength [2]. The release of graphene (GNPs) to the environment can occur during the use of materials containing them, their processing, disposal and storage. It is assumed that the main part of graphene nanoparticles enters the environment with wastewater. This may not only cause a direct impact of this type of nanoparticles on living organisms but also indirectly affects the mobility/immobilization of other contaminants, what was previously documented for other carbon nanomaterials. The aim of the present study was to determine the adsorption of the selected pharmaceuticals (Diclofenac – DCF, Triclosan – TCS, Naproxen – NPX and caffeine – CAF) by graphene nanoplatelets (GNPs) with different functionalization (neutral, hydrophilic, hydrophobic and Zn-doped). The toxic effect of GNPs in relation to *Daphnia magna* and *Lemna minor* was also studied. Physical and chemical characterization of GNPs included: elemental analysis (C, H, N), surface area assessment ( $S_{\text{BET}}$ , pore volume, micropore volume and surface area, and mean pore width), FTIR spectroscopy and Raman spectroscopy. All investigated compounds demonstrated relatively fast adsorption kinetics on investigated GNPs. A two-step kinetic adsorption of DCF, NPX, TCS and CAF by all investigated GNPs could be observed. Neutral GNPs (non-functionalized) were characterized to the highest affinity to the tested pharmaceuticals, often showing twice as much adsorption than the other tested GNPs. Graphene modified with hydrophilic groups has a lowest affinity to investigated pharmaceuticals. It can be assumed that oxygen functional groups are not crucial in the binding of the investigated molecules on GNPs. It should be noted that the adsorption capacity (expressed as a  $q_{\text{exp}}$ ) of all four pharmaceuticals obtained in our studies with GNPs were often higher than those available in the literature for various types of carbon adsorbents. Most of the GNPs (GNP, GNP-Phyl, GNP-Phob) did not show detrimental effect in relation to *D. magna* in concentration below 10 mg/L. The highest dose only (100 mg/l) effected *D. magna* in the case of GNP (15%) and GNP-Phyl (5%). GNP-Zn was the most toxic reaching 80% immobilization at the highest tested concentration (100 mg/L). The toxicity of GNPs in relation to *L. minor* varied, however, as in the case of *D. magna*, the most toxic was GNP-Zn also. A toxic effect was caused by GNP-Phyl at the highest concentration.

## Acknowledgment

*He project received financing from the European Research Council (ERC) as part of the European Union research and innovation program under the Grant NO GA 699794 agreement.*

## References

- [1] J.-C. Arnault, D. Eder, eds., Synthesis and applications of nanocarbons, First edition, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, 2020.
- [2] C. Lee, X. Wei, J.W. Kysar, J. Hone, Measurement of the Elastic Properties and Intrinsic Strength of Monolayer Graphene, Science. 321 (2008) 385–388. <https://doi.org/10.1126/science.1157996>

## **Skarpy składowisk odpadów przemysłowych, ze szczególnym uwzględnieniem składowiska „za Bzurą” w Zgierzu (Polska) – aspekty techniczne, toksykologiczne i krajobrazowe**

**Andrzej Długoński<sup>1,3</sup>, Przemysław Bernat<sup>2</sup>, Mirosława Słaba<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Nauk o Środowisku, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie ul. Wójcickiego 1/3, 01–938 Warszawa

<sup>2</sup> Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

<sup>3</sup> Instytut Ekologii i Ochrony Środowiska, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

e-mail: [andrzej.dlugonski@biol.uni.lodz.pl](mailto:andrzej.dlugonski@biol.uni.lodz.pl)

*Słowa kluczowe: skarpy nadrzeczne, monitoring środowiska, rewitalizacja przyrodnicza, rzeka Bzura*

Postępowanie z wytwarzanymi obecnie odpadami przemysłowymi (w tym niebezpiecznymi) i ich składowanie jest regulowane przez ustawę z 2012 r. o odpadach z późniejszymi zmianami (Dz.U. 2022.699) i zharmonizowane z zasadami obowiązującymi w Unii Europejskiej (UE). Niestety, do dzisiaj jeszcze istotny problem stanowią składowiska odpadów przemysłowych powstałe przed przystąpieniem Polski do UE, a zwłaszcza „niczyje” składowiska pozostałe po zakładach przemysłowych zlikwidowanych w wyniku transformacji gospodarczo-politycznej w 1989 roku. Przyjmuje się, że w Polsce jest obecnie około 80 tego rodzaju składowisk, spośród których 5 określanych potocznie mianem „bomb ekologicznych”, stwarza szczególne zagrożenie dla zdrowia i życia mieszkańców Bydgoszczy, Tarnowskich Gór, Jaworzna, Tomaszowa Mazowieckiego i Zgierza. Ponadto, odcieki z tych składowisk skażają wody gruntowe i poprzez lokalne rzeki, a następnie Odrę i Wisłę trafiają do Bałtyku, systematycznie zwiększając jego zanieczyszczenie substancjami toksycznymi. Przygotowywana od wielu lat „ustawa o wielkoobszarowych terenach zdegradowanych”, mająca na celu rozwiązanie problemów „starych miejsc deponowania odpadów”, nie została dotąd uchwalona.

Jednym z najstarszych składowisk odpadów przemysłowych jest składowisko „za Bzurą” w Zgierzu powstałe na przełomie XIX i XX wieku. Należało ono do dawnych Zakładów Przemysłu Barwników „Boruta” w Zgierzu i było czynne aż do likwidacji w 1995 r. Powierzchnia tego składowiska wynosi 4,5 ha, a wraz ze znajdującymi się poblizu dwoma składowiskami utworzonymi później (składowisko gipsów i popiołów oraz „kwatery I”) i silnie zanieczyszczonym terenem byłych ZPB „Boruta” – około 22 ha. Do roku 1990 nie ewidencjonowano składowania odpadów na składowisku „za Bzurą”. W okresie ostatnich pięciu lat jego funkcjonowania gromadzono około 270 Mg odpadów na rok. Mając na uwadze dane dotyczące substancji produkowanych przez ZPB „Boruta” i używanych do ich wytwarzania surowców oraz półproduktów były to związki o silnym działaniuancerogennym. Potwierdziły to także nasze badania próbek pobranych z odsłoniętych warstw skarpy składowiska oraz zastoin odcieków (kolorowych kałuż) na pograniczu skarpy i rzeki Bzury. Wykazały one obecność między innymi silnie toksycznych amin aromatycznych używanych do produkcji barwników: benzydyny i *o*-tolidyny oraz metali ciężkich: miedzi, cynku, kadmu, ołowiu, manganu i niklu znacznie przekraczających ich dopuszczalną zawartość w ściekach odprowadzanych do wody, czy ziemi.

Powierzchnie składowiska „za Bzurą” i skarpy są porośnięte przez drzewa liczące obecnie około 30 lat o niskich walorach krajobrazowych. Dominują gatunki właściwe dla stanowisk ruderalnych: brzoza brodawkowata (*Betula pendula*), klon jesionolistny (*Acer negundo*) i wierzba iwa (*Salix caprea*). W wielu miejscach skarpy są widoczne wyrwy odsłaniające składowane odpady. Szczególnie niebezpieczne są ubytki u podnóża skarpy o powierzchni około 20 m<sup>2</sup> i głębokości około 2 m, z widocznymi warstwami składowanych tam odpadów. Uszkodzenia powodowane są przede wszystkim przez podmycia do których dochodzi przy zwiększonych poziomach wody w rzece Bzurze w wyniku roztopów i intensywnych opadów deszczu, jak również zatorami powstałymi w wyniku działalności bobrów (*Castor fiber*). Liczne ślady aktywności tych gryzoni widoczne są wzdłuż całego nurtu rzeki. Likwidacja składowiska poprzez wywiezienie odpadów poza Zgierz (do miejsc przeznaczonych na składowanie odpadów niebezpiecznych) wydaje się mało realna ze względu na koszty. Okresowe naprawy skarpy są również mało skuteczne, o czym świadczą odnotowywane co kilka lat (2011, 2013, 2019, 2022) znaczne jej uszkodzenia. Bardziej celowe wydaje się przesunięcie koryta rzeki Bzury o kilkadziesiąt metrów w kierunku południowym (na odcinku składowiska) i odnowienie powierzchni skarpy zgodnie z wytycznymi UE (Dyrektywa 1999/31/WE w sprawie składowania odpadów, z późniejszymi uzupełnieniami) oraz ustawą krajobrazową z 2015 r. (Dz. U. 2015, poz. 774). Propozycje te będą bliżej omówione podczas prezentacji doniesienia





## **Slopes of industrial waste landfills with particular attention on the “za Bzurą” landfill in Zgierz (Poland) – technical, toxicological and landscape aspects**

**Andrzej Długosiński<sup>1,3</sup>, Przemysław Bernat<sup>2</sup>, Mirosława Słaba<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Biological Sciences, Faculty of Biology and Environmental Sciences, Cardinal Stefan Wyszyński University in Warsaw, Wójcickiego 1/3 Street, 01–938 Warsaw, Poland*

<sup>2</sup> *Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź, Banacha Street 12/16, 90–237 Łódź, Poland*

<sup>3</sup> *Institute of Ecology and Environmental Protection, Faculty of Environmental Protection, University of Łódź, Banacha Street 12/16, 90–237 Łódź, Poland*  
*e-mail: andrzej.dlugoski@biol.uni.lodz.pl*

*Keywords: riverside slopes, environmental monitoring, natural revitalization, the Bzura River*

The handling of currently generated industrial waste (including hazardous waste) and its storage is regulated by the Act of 14 December 2012 on waste, as amended (Dz. U. 2022.699) and harmonized with the rules applicable in the European Union (EU). Unfortunately, industrial waste landfills created before Poland’s accession to the EU are still a significant problem, especially “nobody’s” landfills left over from state-owned industrial plants liquidated as a result of the economic and political transformation in 1989. It is assumed that there are currently about 80 such landfills in Poland, of which 5, commonly referred to as “environmental bombs”, pose a particular threat to the health and life of the inhabitants of Bydgoszcz, Tarnowskie Góry, Jaworzno, Tomaszów Mazowiecki and Zgierz (cities of Poland). In addition, leachates from these landfills contaminate groundwater and through local rivers, and then the Oder and Vistula rivers, they reach the Baltic Sea, systematically increasing its pollution with toxic substances. The “Act on large-scale degraded areas”, which has been prepared for many years, is aimed at solving the problems of “old waste disposal sites” and has not yet been passed.

One of the oldest industrial waste landfills is the “za Bzurą” landfill in Zgierz (Poland) established at the turn of the 19th and 20th centuries. It belonged to the former “Boruta” Dyeing Industry Plant in Zgierz and was in operation until the complete liquidation of the factory in 1995. The area of this landfill is 4.5 ha, and together with two nearby landfills established later (a gypsum and ashes landfill and “quarter I”) and the heavily polluted area of the former Dye Industry Plant “Boruta” – about 22 ha. Until 1990, the storage of waste at the “za Bzurą” landfill was not recorded. During the last five years of operation of the landfill, approximately 270 Mg of waste per year was collected there. Taking into account the data on the substances produced by the “Boruta” factory and the raw materials and semi-finished products used for their production, these compounds were highly carcinogenic. This was also confirmed by our analyses of samples taken from the exposed layers of the landfill slope and leachate stagnation (colorful puddles) on the border of the slope and the Bzura River. They showed the presence of, among others, highly toxic aromatic amines used in the production of dyes: benzidine and *o*-tolidine, as well as heavy metals: copper, zinc, cadmium, lead, nickel and manganese, significantly exceeded the permissible content of these substances in sewage discharged into water, or soil.

The surface of the landfill “za Bzurą” as well as the slopes are covered with trees that are currently about 30 years old. Species appropriate for ruderal sites dominate: black birch

(*Betula pendula*), ash maple (*Acer negundo*) and willow (*Salix caprea*). In many places of the slope, there are losses of the top layer of soil, revealing fragments of materials stored there. Particularly dangerous are the cavities at the base of the slope with an area of about 20 m<sup>2</sup> and a depth of about 2 m with visible layers of waste stored there. Damage to the slope is caused primarily by undermining occurring at increased water levels in the Bzura River as a result of thaws and heavy rainfall, as well as by blockages caused by beaver (*Castor fiber*) action. Numerous traces of the activity of these rodents can be seen along the entire course of the river. Liquidation of the landfill by transporting the waste outside Zgierz (to places designated for storing hazardous waste) seems unlikely due to the costs. Periodic repairs of the slope are also not very effective, as evidenced by significant damage to it noticed every few years (2011, 2013, 2019, 2022). It seems more appropriate to move the Bzura riverbed by several dozen meters to the south (in the section of the landfill site) and renew the slope surface in accordance with the EU guidelines (Directive 1999/31/EC on waste storage, as amended) and the Landscape Act of 2015. (Dz. U. 2015, poz. 774). The above proposals will be discussed in more detail during the symposium presentation.



## Wpływ starzonych mikroplastików na toksyczność leków przeciwdepresyjnych dla pierwotniaka *Spirostomum ambiguum*

A. Drobniewska, J. Chojnacka, G. Nałęcz-Jawecki

Wydział Farmaceutyczny Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego Zakład Toksykologii i Bromatologii ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa  
e-mail: agata.drobnieska@wum.edu.pl

*Słowa kluczowe: starzony mikroplastik, leki przeciwdepresyjne, pierwotniak*

Pojęcie mikroplastik (MP) zostało wprowadzone i opisane w 2004 roku jako cząstki plastiku o średnicy mniejszej niż 5 mm. Pomimo coraz większej liczby prac naukowych na temat tworzyw sztucznych w środowisku, badania dotyczące starzenia mikroplastików pozostają ograniczone. Tymczasem zmiany spowodowane procesem starzenia mikroplastików mogą wpływać na ich aktywność biologiczną i procesy sorpcyjne. Istnieją doniesienia naukowe wskazujące na możliwość przenoszenia hydrofobowych, toksycznych związków organicznych zaadsorbowanych na powierzchni mikrocząstek plastików do wnętrza organizmów żywych. Możliwe jest także uwalnianie do środowiska szkodliwych dodatków funkcjonalnych stosowanych w celu polepszenia właściwości tworzyw sztucznych.

Celem badań było określenie wpływu starzenia mikroplastików na interakcje z lekami przeciwdepresyjnymi i ich wpływ na pierwotniaki *Spirostomum ambiguum*. Kolorowy i bezbarwny polistyren (PS) poddano procesom starzenia obejmującym: 1) działanie nadtlenu wodoru z jonami żelaza(II) (reakcja Fentona) oraz 2) nadsiarczanu amonu. Oceniono toksyczność ostrą, subchroniczną oraz zachowania żywieniowe orzęsków w zależności od rodzaju PS, zastosowanego procesu starzenia oraz rodzaju leku antydepresyjnego. Tworzenie wodniczek pokarmowych obserwowano przy życiu mikroskopu KEYENCE VHZ 700.

Zaobserwowano, że dodatek mikroplastiku zmniejszył toksyczność sertraliny o 40%. W przypadku pozostałych trzech leków: paroksetyny, duloksetyny i fluoksetyny odnotowano niższe obniżenie toksyczności. Wpływ kolorowego PS na toksyczność był silniejszy niż przezroczystego, natomiast rodzaj zastosowanej metody starzenia mikroplastiku nie miał istotnego znaczenia. W procesie tworzenia wodniczek nie zaobserwowano różnic wynikających z wpływu MP surowego i MP starzonego. Różnice wynikały ze zmiany stężenia leku.

*Badania sfinansowano z grantu Narodowego Centrum Nauki, numer 2019/35/B/NZ8/01388.*

## Bakterie algicydowe – ważny czynnik w kontroli sinicowych zakwitów wód

**A. Font-Nájera<sup>1</sup>, J. Morón-López<sup>1</sup>, L. Serwecińska<sup>1</sup>, M. Kokociński<sup>2</sup>, T. Jurczak<sup>3</sup>,  
L. Wolska<sup>4</sup>, J. Mankiewicz-Boczek<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii, Polska Akademia Nauk, ul. Tylna 3, 90–364, Łódź

<sup>2</sup> Zakład Hydrobiologii, Wydz. Biologii, Uniwersytet Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61–614, Poznań

<sup>3</sup> Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237, Łódź

<sup>4</sup> Zakład Toksykologii Środowiskowej, Wydział Nauk o Zdrowiu, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębowa 23A, 80–204, Gdańsk

e-mail: a.font-najera@erce.unesco.lodz.pl

*Słowa kluczowe:* szczepy akseniczne i środowiskowe, biotechnologia, *psbA*, *recA*, ROS, związki algicydowe

Niebezpieczne sinicowe zakwity wód są ważnym problemem środowiskowym w erze Antropocenu, a postępująca zmiana klimatu będzie przyczyniała się do ich wzrostu. Jednym z testowanych rozwiązań, które ostatnio zyskało zainteresowanie w środowisku naukowym, jest wykorzystanie bakterii algicydowych jako możliwych, naturalnych antagonistów przeciwko rozwojowi cyjanobakterii. Jednakże, aby bakterie algicydowe mogły być zastosowane jako strategia łagodząca oddziaływanie niebezpiecznych sinicowych zakwitów wód na środowisko, dalsza wiedza na temat sposobu działania bakterii algobójczych jest niezbędna. W związku z tym, celem niniejszej pracy było wyizolowanie bakterii z próbek wody zawierających cyjanobakterie i oszacowanie ich działania algicydowego wobec sinic, w laboratoryjnych hodowlach mieszanych. Zbadaliśmy wrażliwość szczepów sinic za pomocą analiz genetycznych z udziałem ekspresji genów funkcyjnych: *psbA* (naprawa fotosystemu II) i *recA* (naprawa uszkodzeń DNA); a także oznaczyliśmy zmiany w stężeniu reaktywnych form tlenu (ROS), aby opisać ogólny stres oksydacyjny w komórkach sinic. Wreszcie, opisaliśmy skład potencjalnych związków algicydowych, które mogłyby odgrywać ważną rolę w degradacji komórek cyjanobakterii. Do badań przesiewowych w eksperymentach z hodowlami mieszanymi – cyjanobakterie i bakterie algicydowe – wybrano trzy szczepy *Microcystis aeruginosa*, jako te reprezentujące rodzaj cyjanobakterii najbardziej znanych i szkodliwych, występujących powszechnie w ekosystemach słodkowodnych. Wyniki pokazały, że 26 szczepów (11%) – z ogólnej liczby 235 wyizolowanych bakterii – wykazało działanie algobójcze. Dalsze badania skupiające się na bakteriach, które wykazały ponad 50% efekt algicydowy wobec *M. aeruginosa*, doprowadziły do wyboru sześciu kandydatów, należących do różnych taksonów bakteryjnych w obrębie typów: Firmicutes (*Bacillus* i *Exiguobacterium*), Gammaproteobacteria (*Morganella*, *Stenotrophomonas* i *Aeromonas*) oraz Bacteroidetes (*Chryseobacterium*). Wszystkie sześć szczepów bakterii testowano wobec dziewięciu różnych szczepów sinic należących do gatunków: *M. aeruginosa*, *Aphanizomenon gracile*, *Planktothrix agardhii* i *Raphidiopsis raciborskii*, w tym szczepów aksenicznych uzyskanych z komercyjnie dostępnych kolekcji kultur oraz nieaksenicznych szczepów środowiskowych wyizolowanych z Polski jezior. Wyniki badań wykazały, że szczepy cyjanobakterii różnią się wrażliwością na poszczególne szczepy bakterii algicydowych. Dwa szczepy bakterii (*Morganella* i *Bacillus*) wykazały najwyższe współczynniki algicydowe wobec większości

szczepów sinic (do 100% po 6 dniach hodowli) i zostały wybrane do dalszych analiz. Analizy ekspresji genów przeprowadzono pomiędzy dwoma wybranymi kandydatami bakterii algobójczych, a testowanymi szczepami *M. aeruginosa* i *A. gracile* (najczęściej występujące sinice tworzące zakwity w Europie). Wyniki wskazywały, że szczepy *M. aeruginosa* prezentowały silną ekspresję (nad ekspresję w stosunku do kontroli) genu *psbA* po 12 godz., podczas gdy w przypadku szczepów *A. gracile* ta sama reakcja była opóźniona do 24–30 godzin. Gen *recA* wykazywał podobną dynamikę jak *psbA* dla szczepów *A. gracile*, natomiast u szczepów *M. aeruginosa* obniżona ekspresja nastąpiła między 24–30 godziną. Ogólne opóźnienie w odpowiedzi na stres dla obu genów w szczepach *A. gracile* można przypisać różnicom w metabolizmie lub tempie wzrostu sinic, wiedząc, że *A. gracile* wiążą azot (diazotoficzne) i mają wolniejszy metabolizm i tempo wzrostu w porównaniu z *M. aeruginosa* (niediazotoficzne). Pomimo tego, analiza ROS wykazała, że wszystkie szczepy *M. aeruginosa* i *A. gracile* miały znacząco zwiększony stres oksydacyjny po 3 i 6 dniach hodowli z bakteriami algicydowymi, co skutkowało prawie 100% usunięciem lub uszkodzeniem komórek. Wreszcie, zbadaliśmy skład związków algicydowych wykrytych podczas hodowli mieszanych – *M. aeruginosa* i *Morganella*. Wyniki sugerowały, że *Morganella* była zaangażowana w uwalnianie kilku substancji, zwłaszcza: kadaweryny, tyraminy, cyklo[Pro-Gly] i cyklo[Pro-Val], których profil stężenia zmieniał się w czasie. Niniejsze badania są nowatorski w zakresie charakterystyki szczepu *Morganella* o właściwościach algobójczych wobec cyjanobakterii, po raz pierwszy również opisano wrażliwość *A. gracile* w kontakcie z bakteriami algobójczymi. Prezentowane wyniki pokazują potencjał, pozyskanych ze środowiska, bakterii algicydowych w rozwiązaniach biotechnologicznych dla kontroli niebezpiecznych sinicowych zakwitów wód.

*Badania finansowane z projektu „Izolacja, identyfikacja i charakterystyka bakterii algicydowych jako potencjalnego czynnika kontrolującego występowanie toksycznych sinicowych zakwitów wód słodkich” ALGICYDY, NCN, 2019/33/B/NZ8/02093.*



## Algicidal bacteria – an important factor in the control of cyanobacterial blooms

**A. Font-Nájera<sup>1</sup>, J. Morón-López<sup>1</sup>, L. Serwecińska<sup>1</sup>, M. Kokociński<sup>2</sup>, T. Jurczak<sup>3</sup>,  
L. Wolska<sup>4</sup>, J. Mankiewicz-Boczek<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> European Regional Centre for Ecohydrology of the Polish Academy of Sciences, 3 Tylna, 90–364, Łódź

<sup>2</sup> Department of Hydrobiology, Adam Mickiewicz University, 6 Uniwersytetu Poznańskiego, 61–614, Poznań,

<sup>3</sup> UNESCO Chair on Ecohydrology and Applied Ecology, University of Lodz, 12/16 Banacha, 90–237, Łódź,

<sup>4</sup> Department of Environmental Toxicology, Faculty of Health Sciences, Medical University of Gdansk, Dębowa Str. 23A, 80–204, Gdańsk,  
e-mail: a.font-najera@erce.unesco.lodz.pl

*Keywords: axenic and environmental strains, biotechnology, psbA, recA, ROS, algicidal compounds*

Cyanobacterial harmful algal blooms are a major environmental concern in the Anthropocene era and their overall occurrence is expected to continue to increase due to climate change. To address this problem, the use of algicidal bacteria as a possible natural antagonists against the development of cyanobacteria is a topic that lately has gained interest in the scientific community. However, further knowledge of the mode of action of algicidal bacteria is needed before they can be applied as mitigation strategies to solve this environmental problem. In the present study, we aimed to isolate bacteria from water samples containing cyanobacterial blooms and reveal their algicidal effect against cyanobacteria by controlled laboratory co-culture assays. We investigated the sensitivity of cyanobacterial strains with gene expression assays targeting the key functional genes *psbA* (photosystem II repair) and *recA* (DNA repair), and measure the reactive oxygen species (ROS) to describe the overall oxidative stress in cyanobacterial cells when exposed to algicidal bacteria. Finally, we described the composition of potential algicidal compounds that could play an important role in the degradation of cyanobacterial cells. During the screening tests for algicidal bacteria, three strains of *Microcystis aeruginosa* were selected for the co-culture assays, as the most known harmful cyanobacterium occurring in freshwater ecosystems. The results showed that 26 strains (11%) – from a total of 235 isolated bacteria – showed an algicidal effect against *M. aeruginosa*. Further screening focusing on bacteria that presented an algicidal effect above 50% against *M. aeruginosa* led to the selection of six candidates that belong to different bacterial taxa within the phyla Firmicutes (*Bacillus* and *Exiguobacterium*), Gammaproteobacteria (*Morganella*, *Stenotrophomonas* and *Aeromonas*) and Bacteroidetes (*Chryseobacterium*). All six algicidal candidates were tested against nine different cyanobacterial strains, including axenic strains obtained from culture collections and non-axenic environmental strains isolated from Poland belonging to the species: *M. aeruginosa*, *Aphanizomenon gracile*, *Planktothrix agardhii* and *Raphidiopsis raciborskii*. The results revealed that cyanobacterial strains had different sensitivity against particular algicidal bacteria. Two bacterial strains (*Morganella* and *Bacillus*) showed the highest algicidal ratios against most cyanobacterial strains (up to 100% after 6 days of co-culture) and were selected for further analyses. Gene expression analyses were carried out in co-cultures between the two selected algicidal candidates and different strains of *M. aeruginosa* and *A. gracile*, which are two of the most common bloom-forming cyanobacteria in Europe. Interestingly, the results indicated that

*M. aeruginosa* strains presented a strong upregulation of the gene *psbA* after 12 h of co-culture, whereas in the case of *A. gracile* strains the same reaction was delayed until 24–30 h of co-culture. The gene *recA* showed similar dynamics to *psbA* for *A. gracile* strains, although in *M. aeruginosa* strains many downregulations occurred between 24–30 h of co-culture. The overall delay in the stress response for both genes in *A. gracile* strains could be attributed to differences in metabolism or growth rate of cyanobacteria, knowing that *A. gracile* are nitrogen-fixating (diazotrophic) and have a slower metabolism and growth rate when compared to *M. aeruginosa* (non-diazotrophic). Despite the above, ROS analysis revealed that all strains of *M. aeruginosa* and *A. gracile* had significantly increased the oxidative stress after 3 and 6 days of co-culture resulting in almost 100% cell removal or cell damage. Finally, we investigated the algicidal compound composition found in the co-cultures from different strains of *M. aeruginosa* and *Morganella* – the most active algicidal strain. The results suggested that *Morganella* was involved in the release of several substances, notably cadaverine, tyramine, cyclo[Pro-Gly] and cyclo[Pro-Val], whose concentration profile in the co-cultures evolved over time. Such dynamics were attributed to the metabolic action between *Morganella* and the associated bacteria in the co-cultures containing non-axenic environmental strains of *M. aeruginosa*, which were strictly different when compared to the co-culture containing an axenic strain of *M. aeruginosa*. The present study is novel in the characterization of a *Morganella* strain with algicidal properties against cyanobacteria, and it is also the first time that the sensitivity of the cyanobacterium *A. gracile* was described when exposed to algicidal bacteria. Our research sheds light on how algicidal bacteria could be potential biotechnological solutions for the control of cyanoHABs.

*Research funded: National Science Centre 2019/33/B/NZ8/02093 “ALGICYDY” Isolation, identification and characterization of algicidal bacteria as a potential factor controlling the occurrence of freshwater toxic cyanobacterial blooms.*

## Charakterystyka strukturalna i funkcjonalna bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych w ekosystemie leśnym i rolniczym

**A. Gałazka<sup>1</sup>, J. Niedźwiecki<sup>2</sup>, A. Marzec-Grządziel<sup>1</sup>, K. Gawryjolek<sup>1</sup>, K. Furtak<sup>1</sup>, M. Przybyś<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii Rolniczej

<sup>2</sup> Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów

<sup>3</sup> Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24–100 Puławy

e-mail: [agalazka@iung.pulawy.pl](mailto:agalazka@iung.pulawy.pl)

*Słowa kluczowe: profil metaboliczny, mikrobiom i mykobiom gleb, ekosystem leśny, ekosystem rolniczy*

Siedlisko leśne definiuje się jako zespół względnie trwałych czynników klimatycznych, topograficznych, wodno-glebowych tworzących warunki do życia w lesie. Jest to zespół warunków zewnętrznych, takich jak klimat, gleba, morfologia terenu wraz z budową geologiczną, w których funkcjonuje dana fito- i zoocenoza. Zewnętrzny obraz siedliska reprezentują rośliny, zarówno runa leśnego, jak i gatunki drzew oraz ich cechy waloryzacyjne (waloryzacja). W lasach zdeformowanych przez człowieka roślinność runa często nie odzwierciedla potencjalnych możliwości siedlisk, a jedynie możliwości powierzchniowych poziomów gleb, nie uwzględniając ich głębszych warstw, dostępnych dla korzeni drzew.

Celem badań była charakterystyka funkcjonalna i strukturalna mikroorganizmów (bakterii i grzybów) w glebie leśnej i uprawianej rolniczo oraz porównanie tych środowisk pod względem składu mikrobiologicznego. Dodatkowo celem badań było określenie zróżnicowania strukturalnego i funkcjonalnego bakterii zasiedlających ryzosferę trzech wybranych gatunków drzew: olszy czarnej (*Alnus glutinosa*), brzozy brodawkowatej (*Betula pendula*) i sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*). Próbkę gleby pobrano w latach 2019–2021 z lasu mieszanego zlokalizowanego w pobliżu Rolniczego Zakładu Doświadczalnego IUNG-PIB w Osinach. Próbkę pobrano z warstw korzeni drzew. Każdą próbkę pobierano w trzech powtórzeniach biologicznych każdego sierpnia z wybranych gatunków drzew. Określono podstawowe parametry fizykochemiczne gleb, oznaczono aktywność enzymatyczną oraz oceniono profil metaboliczny gleb (Biolog EcoPlates i FFPlates).

Wykazano, że skład gatunkowy mikroorganizmów glebowych był ściśle związany z właściwościami fizycznymi i biochemicznymi badanych gleb, jak również zależał od miejsca poboru próbek (danego ekosystemu). Gleby o podobnych właściwościach fizykochemicznych (odczyn, zawartość węgla organicznego) posiadały zbliżony skład mikroorganizmów (bakterie, grzyby). Mikrobiom rdzeniowy bakterii i grzybów był charakterystyczny dla danego ekosystemu. Zwiększona bioróżnorodność środowiska glebowego była ściśle związana ze zwiększoną ilością potencjalnych funkcji pełnionych przez mikroorganizmy w glebie. Bioróżnorodność strukturalna i funkcjonalna grzybów była większa w glebach kwaśnych (próbki pobrane z lasu) natomiast bakterii w glebach o odczynie zbliżonym do neutralnego (pole, granica). Nasze badania wykazały, że gleba pobrana z ryzosfery wybranych gatunków drzew – olszy czarnej, brzozy brodawkowatej i sosny zwyczajnej – posiadała unikalny mikrobiom bakteryjny i grzybowy. Mikrobiom ten był ściśle zależny od gatunku drzewa i właściwości fizykochemicznych gleby. Aktywność



biologiczna gleby i procesy metaboliczne przeprowadzane przez mikroorganizmy zależały również od gatunku rośliny. Największą aktywność metaboliczną na płytkach EcoPlates zaobserwowano w glebie pobranej spod olszy czarnej i brodawkowej brzozy. Z kolei gleba pobrana spod sosny charakteryzowała się znacznie niższą aktywnością biologiczną i mniejszym potencjałem metabolicznym. Wyniki uzyskane na płytce FFPlate wykazały również najwyższy potencjał metaboliczny grzybów w próbkach pobranych ze strefy korzeniowej olszy czarnej. Najlepiej metabolizowanym związkiem była L-fenylalanina, L-asparagina, D-mannitol i kwas g-hydroksymasłowy.

Zrozumienie różnorodności mikroorganizmów żyjących w strefie okołokorzeniowej drzew oraz interakcji między mikrobiomem a drzewami ułatwi opracowanie przyszłych strategii ochrony lasów i znalezienie odpowiednich wskaźników do oceny gleb leśnych. Otrzymane wyniki badań stanowią dodatkowe źródło informacji dotyczące składu mikrobiologicznego, aktywności enzymatycznej i niektórych właściwości chemicznych gleby lasu mieszanego i otaczającego go pola uprawnego.

*Badania wykonano w ramach realizacji projektu pt. „Charakterystyka strukturalna i funkcjonalna bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych w ekosystemie leśnym i rolniczym” (2019–2022) otrzymanego z subwencji MEiN.*



## Structural and functional characteristics of biodiversity of soil microorganisms in forest and agricultural ecosystem

**A. Gałazka<sup>1</sup>, J. Niedźwiecki<sup>2</sup>, A. Marzec-Grządziel<sup>1</sup>, K. Gawryjolek<sup>1</sup>, K. Furtak<sup>1</sup>, M. Przybyś<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Department of Agricultural Microbiology*

<sup>2</sup> *Department of Soil Erosion and Soil Protection*

<sup>3</sup> *Department of Plant Breeding and Biotechnology; Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Czartoryskich 8 Street, 24–100 Pulawy*  
*e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl*

*Keywords: metabolic profile, soil microbiome and mycobiome, forest ecosystem, agricultural ecosystem*

A forest habitat is defined as a set of relatively persistent climatic, topographic, water and soil factors creating conditions for forest life. It is a complex of external conditions, such as climate, soil, land morphology with a geological structure, in which a given phyto- and zoocenosis functions. The external image of the habitat is represented by plants, both undergrowth and tree species and their valuation features (valuation). In forests deformed by man, undergrowth vegetation often does not reflect the potential possibilities of habitats, but only the possibilities of surface soil levels, not taking into account their deeper layers, which are accessible to tree roots.

The aim of the research was the functional and structural characteristics of microorganisms (bacteria and fungi) in forest and agricultural soil, and the comparison of these environments in terms of microbiological composition. Additionally, the aim of the study was to determine the structural and functional diversity of bacteria inhabiting the rhizosphere of three selected tree species: black alder (*Alnus glutinosa*), silver birch (*Betula pendula*) and Scots pine (*Pinus sylvestris*). Soil samples were collected in 2019–2021 from a mixed forest located near the Agricultural Experimental Station IUNG-PIB in Osiny, Poland. Samples were taken from tree root layers. Each sample was collected in three biological replicates every August from selected tree species. The basic physical and chemical parameters of soils were determined, as well as the determination of enzymatic activity and the assessment of the metabolic profile of soils (Biolog EcoPlates and FFPlates).

It was shown that the species composition of soil microorganisms was closely related to the physical and biochemical properties of the tested soils, and also depended on the sampling site (a given ecosystem). Soils with similar physicochemical properties (reaction, organic carbon content) had a similar composition of microorganisms (bacteria, fungi). The core microbiome of bacteria and fungi was ecosystem-specific. The increased biodiversity of the soil environment was closely related to the increased number of potential functions performed by soil microorganisms. The structural and functional biodiversity of fungi was greater in acidic soils (samples taken from the forest) and bacteria in soils with a reaction close to neutral (field, boundary). Our research showed that the soil taken from the rhizosphere of selected tree species – black alder, silver birch and Scots pine – had a unique bacterial and fungal microbiome. This microbiome was closely related to the tree species and the physicochemical properties of the soil. Soil biological activity and metabolic processes carried out by microorganisms also depended on the plant species. The highest metabolic activity on EcoPlates was observed in

the soil collected from under black alder and warty birch. In turn, the soil taken from under the pine was characterized by much lower biological activity and lower metabolic potential. The results obtained on the FFPlate plate also showed the highest metabolic potential of the fungi in the samples taken from the black alder root zone. The best metabolized compound was L-phenylalanine, L-asparagine, D-mannitol and g-hydroxybutyric acid.

Understanding the diversity of microorganisms living in the periroot zone of trees and the interactions between the microbiome and trees will facilitate the development of future forest protection strategies and finding appropriate indicators for assessing forest soils. The obtained test results are an additional source of information on the microbiological composition, enzymatic activity and some chemical properties of the soil of the mixed forest and the surrounding farmland.

*The research was carried out as part of the project entitled “Structural and functional characteristics of biodiversity of soil microorganisms in forest and agricultural ecosystems” (2019–2022) received from the Ministry of Education and Science.*



## Polimery biodegradowalne – ocena procesu biodegradacji w aspekcie inżynierii materiałowej i środowiskowej

K. Gzyra-Jagiela<sup>1,2</sup>, L. Madej-Kielbik<sup>1</sup>, J. Jóźwik-Pruska<sup>1</sup>, A. Milczarek<sup>1</sup>, P. Cichacz<sup>1</sup>,  
A. Bednarowicz<sup>1,2</sup>, D. Zielińska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sieć Badawcza Łukasiewicz – Łódzki Instytut Technologiczny w Łodzi, ul. Skłodowskiej-Curie 19/27, 90–570 Łódź

<sup>2</sup> Politechnika Łódzka, Instytut Materiałoznawstwa Tekstyliów i Kompozytów Polimerowych, ul. Żeromskiego 116, 90–924 Łódź

e-mail: karolina.gzyra-jagiela@lit.lukasiewicz.gov.pl

*Słowa kluczowe: biopolimery, biodegradacja, GPC/SEC, SEM, DSC*

Biodegradowalne termoplastyczne polimery w ostatnim czasie stały się ciekawą alternatywą wobec polimerów pochodzenia petrochemicznego nie ulegających procesom rozkładu tj. polipropylen, polietylen, PET. Biodegradowalne polimery są coraz częściej wykorzystywane w różnych zastosowaniach, takich jak opakowania, tekstylia, medycyna czy farmacja. Ponadto zainteresowanie biotworzywami jest również wynikiem rozporządzeń UE, aspektów środowiskowych i społecznych. Przykładem jest dyrektywa UE z dnia 5 czerwca 2019 r. nr 2019/904 w sprawie ograniczenia wpływu niektórych produktów z tworzyw sztucznych na środowisko, której głównym celem jest ograniczenie negatywnego wpływu niektórych wyrobów z tworzyw sztucznych na środowisko, w szczególności na środowisko wodne i zdrowie ludzi. Przewiduje ona stopniowe wycofywanie niektórych produktów z tworzyw sztucznych, a w przypadku gdy nie ma alternatywy dla danego produktu, wprowadzenie rozszerzonej odpowiedzialności producenta w celu pokrycia kosztów oczyszczania odpadów z tworzyw sztucznych i gospodarowania nimi. Dlatego też, obserwuje się trend do zastępowania stosowanych rozwiązań alternatywnymi polimerami, które ulegają degradacji w środowisku naturalnym. Do przedstawicieli polimerów biodegradowalnych zaliczamy np.: poli(hydroksyalkaniany), poli(kwas mlekowy), poli(kwas hydroksymasłowy), poli(adypinian 1,4-butylenu-co-tereftalan 1,4-butylenu), poli(alkohol winylowy), polikaprolakton, poliesteramid, skrobię termoplastyczną, niemniej wachlarz dostępnych polimerów jest szerszy i w zależności od struktury i właściwości mogą być wykorzystywane w różnych zastosowaniach.

Sieć Badawcza Łukasiewicz – Łódzki Instytut Technologiczny prowadzi liczne prace w zakresie biodegradowalnych materiałów zarówno w aspekcie inżynierii materiałowej jak i środowiskowej. Dlatego też, w ramach prezentacji zostaną przedstawione realizowane prace z zakresu biodegradacji różnych struktur wytworzonych z biopolimerów w szczególności PLA. Zaprezentowane zostaną techniki analityczne pozwalające ocenić strukturę polimerów w czasie trwania procesu biodegradacji ale również ocenę mediów biodegradacyjnych po procesie. Badania biodegradacji prowadzone są w symulowanych warunkach laboratoryjnych w akredytowanym laboratorium. Proces może być prowadzony w różnych mediach biodegradacyjnych tj. gleba, kompost, czy środowiskowo wodne. Badania podatności na rozkład mikrobiologiczny w warunkach tlenowych są prowadzone w ściśle określonych warunkach wilgotności i temperatury w zależności od wybranego podłoża zgodnie z dokumentami normatywnymi. W pierwszym etapie materiał jest poddany badaniom ubytku masy w wyznaczonych czasookresach procesu biorozkładu. Kolejnym etapem może być ocena materiału wykorzystując aparaturę pomiarowo-badawczą. Rozkład masy molowej, średnie wartości masy molowej i stopień polidispersji

biodegradowalnego materiału są wyznaczane za pomocą chromatografii żelowej (GPC/SEC). Analiza pozwala na oznaczenie poziomu biodegradacji ale również jest narzędziem umożliwiającym określenie mechanizmu procesu. Badany materiał jeżeli jest termoplastem, można przeanalizować wykorzystując techniki termiczne tj. skaningową kalorymetrię różnicową (DSC). Podczas tej analizy polimer poddany jest zmianie temperatury w ściśle określonym reżimie temperaturowo-czasowym, co powoduje szereg procesów zarówno fizycznych jak i chemicznych np.: sieciowanie, przemiany związane z temperaturą zeszklenia, topnienie czy rozkład. W zależności od etapu biodegradacji polimer może wykazywać zmienność parametrów termicznych. Polimer również może zostać poddany analizie spektrofotometrycznej w podczerwieni, co pozwala na obserwację struktury. Wraz z postępującym procesem struktura może wykazywać szereg zmian tj. zmiana intensywności kluczowych ugrupowań chemicznych, pojawienie się nowych ugrupowań chemicznych wynikających z rozerwania wiązań chemicznych. Kolejną techniką pozwalającą na obserwację i ocenę procesu biorozkładu jest skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM). Analiza morfologiczna powierzchni materiału pozwala na obserwację zaniku struktury pierwotnej, pojawianie się sygnałów rozpadu. Powyższe techniki są stosowane w aspekcie oceny struktury biodegradowalnego materiału, co jest niezmiernie ważną dla inżynierii materiałowej. Natomiast również ważny jest aspekt środowiskowy. Podstawowym pytaniem jest czy w wyniku biodegradacji biopolimery są obciążeniem dla środowiska naturalnego. W ochronie środowiska bardzo istotny jest również proces bioasymilacji polimerów, w którym produkt degradacji polimeru zostaje przyswojony (zasymilowany) przez środowisko. Dlatego też, również analiza mediów po procesie biodegradacji jest ważnym zadaniem. Możemy wykorzystywać takie same instrumenty analityczne do oceny pozostałości z biopolimerów, ale również zastosować metody tj. chromatografia gazowa. Inżynieria materiałowa powinna uwzględniać aspekt odpadów po procesie biodegradacji i ich potencjalnego wpływu na środowisko. W ramach prac przeprowadzono badania zarówno materiału jak i mediów degradacyjnych z poli(kwasu mlekowego) w celu oceny procesu w aspekcie inżynierii materiałowej i środowiskowej. Oprócz klasycznej techniki chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC/MS) w badaniach wykorzystano również technikę pirolitycznej chromatografii gazowej (Py-GC/MS). Technika ta jest stosowana w analizie polimerów, dzięki takiemu rozwiązaniu uwolnione w wyniku pirolizy anality wprowadzane są bezpośrednio do kolumny chromatograficznej bez żadnych strat. Dodatkowo w badaniach środowiskowych wykorzystano technikę chromatografii żelowej (GPC/SEC) pozwalającą na określenie rozkładu mas molowych, średnich mas molowych i polidispersji oraz technikę spektrofotometrii w podczerwieni, która umożliwia badanie struktury po degradacji polimerów.



## Biodegradable polymers – assessment of biodegradation process in the context of materials and environmental engineering

K. Gzyra-Jagiela<sup>1,2</sup>, L. Madej-Kielbik<sup>1</sup>, J. Jóźwik-Pruska<sup>1</sup>, A. Milczarek<sup>1</sup>, P. Cichacz<sup>1</sup>,  
A. Bednarowicz<sup>1,2</sup>, D. Zielińska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ŁUKASIEWICZ Research Network – Łódź Institute of Technology, Marii Skłodowskiej-Curie 19/27 St., 90–570 Łódź

<sup>2</sup> Lodz University of Technology, Institute of Materials Science of Textiles and Polymer Composites, 116 Żeromskiego St., 90–924 Łódź

e-mail: karolina.gzyra-jagiela@lit.lukasiewicz.gov.pl

*Keywords: biopolymers, biodegradation, GPC/SEC, SEM, DSC*

Biodegradable thermoplastic polymers have recently become an interesting alternative to non-degradable polymers of petrochemical source, i.e. polypropylene, polyethylene, PET. Biodegradable polymers are being increasingly used in various applications such as packaging, textiles, medicine and pharmaceuticals. Moreover, the interest in bioplastics is also a result of EU regulations, environmental and social aspects. The EU Directive of June 5, 2019 No. 2019/904 is an example of the right to reduction of the environmental impact of plastic products, the main objective of which is to reduce the negative impact of certain plastic products on the environment, in particular on the aquatic environment and human health. It includes the staged phase-out of some plastic products and, where there are no alternatives to a plastic product, the introduction of extended producer responsibility to cover the costs of plastic waste purification and management. Therefore, there is a trend toward replacing the solutions used with alternative polymers that degrade in the environment. Representatives of biodegradable polymers include, for example, poly(hydroxyalkanoates), poly(lactic acid), poly(hydroxybutyric acid), poly(1,4-butylene adipate-co-terephthalate), poly(vinyl alcohol), polycaprolactone, polyesteramides, thermoplastic starch, but the range of available polymers is wider and, depending on their structure and properties, can be used in various applications.

Lukasiewicz Research Network – Lodz Institute of Technology is conducting a lot of research in the field of biodegradable materials in aspects of materials and environmental engineering. Therefore, the presentation will include biodegradation process of various structures made from biopolymers in particular PLA. Analytical techniques will be presented to assess the structure of polymers during the biodegradation, but also to estimate the biodegradation media after the process. Biodegradation studies are conducted under simulated laboratory conditions in an accredited laboratory. The process can be carried out in various biodegradation media, i.e. soil, compost, or aquatic media. Tests of susceptibility to microbial decomposition under aerobic conditions are carried out under specific conditions of humidity and temperature depending on the chosen medium in accordance with normative documents. Weight loss at determined times of the biodegradation process. The next stage can be the assessment of the material using measuring and research instruments. The molar mass distribution, average molar mass values and degree of polydispersity of the biodegradable material are determined by gel permeation chromatography (GPC/SEC). The analysis makes it possible to determine the level of biodegradation but is also a tool to define the mechanism of the process. The thermoplastic material can be analyzed using thermal techniques, i.e. differential scanning calorimetry (DSC). During this analysis, the polymer is exposed to a temperature change in a well-defined

temperature-time regime, which causes a number of physical as well as chemical processes, e.g.: crosslinking, glass transition, melting or decomposition. Depending on the level of biodegradation, the polymer can show variability the thermal parameters. The polymer also can be examined by infrared spectrophotometric analysis, which allows observation of the structure. As the process progresses, the structure could show a spectrum of changes, i.e. a change in the intensity of key chemical groups, the formation of new chemical groups as a result of the breaking of chemical bonds. Scanning electron microscopy (SEM) is the next technique to observe and assess the biodegradation process. Morphological analysis of the surface of the material allows observation of the disappearance of the primary structure, the appearance of decomposition signals. The presented techniques are used in the evaluation of the structure of biodegradable material, which is very important for materials engineering. On the other hand, the environmental aspect is also important. The basic question is whether biopolymers are a pollution to the environment as a result of biodegradation. In environmental protection, the process of polymer bioassimilation, in which the degradation product of a polymer is assimilated by the environment, is also very important. Therefore, also the analysis of media after the biodegradation process is an important activity. We can use the same analytical instruments for evaluating residues from biopolymers, but also use methods, i.e. gas chromatography. Materials engineering should include the aspect of post-biodegradation waste and its potential environmental impact. In this work, both the material and degradation media of poly(lactic acid) were tested to evaluate the process in terms of material and environmental engineering. Apart from the classical technique of gas chromatography conjugated with mass spectrometry (GC/MS), the study also used the technique of pyrolytic gas chromatography (Py-GC/MS). This technique is used in the analysis of polymers, due to this solution, the analytes released by pyrolysis are introduced directly into the chromatographic column without any losses. Moreover, environmental studies have used the gel permeation chromatography (GPC/SEC) technique, which allows the determination of molar mass distribution, average molar masses and polydispersity, and the infrared spectrophotometry technique, which allows the study of the structure of residual polymers.

## Ocena potencjału przepuszczalnych barier reaktywnych w oczyszczaniu wód deszczowych

T. Jurczak<sup>1</sup>, P. Jarosiewicz<sup>1,2</sup>, A. Font-Najera<sup>2</sup>, J. Mankiewicz-Boczek<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, 90–237 Łódź, ul. Banacha 12/16

<sup>2</sup>Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii PAN, 90–364 Łódź, Tylna 3  
e-mail: tomasz.jurczak@biol.uni.lodz.pl

*Słowa kluczowe: przepuszczalne bariery reaktywne, biodegradacja, fitoremediacja, ekohydrologia, jakość wód*

Ponad połowa mieszkańców ziemi żyje w miastach, a ekosystemy te są obecnie szczególnie dotknięte skutkami zmiany klimatu. Problem z okresowymi powodzią, wyspą ciepła, zbyt szybkim odpływem wód oraz transportem zanieczyszczeń i znacznie ograniczonymi zasobami przyrodniczymi osłabiają ich naturalne zdolności adaptacyjne, wpływając negatywnie na funkcjonowanie miast oraz zdrowie mieszkańców. Radom, jako jedno z pierwszych miast w Polsce, podjęło w ramach projektu LIFERADOMKLIMA-PL (2015–2022), wyzwanie kompleksowego przeciwdziałania tym niekorzystnym zmianom z wykorzystaniem potencjału dolin rzecznych i odprowadzanych do nich wód z terenu miasta. Punktem wyjścia do działań projektowych była koncepcja ekohydrologii, integrująca rozwiązania hydrotechniczne i biologiczne wdrażane w latach 2010–2015 między innymi w górnym odcinku rzeki Bzury w Łodzi w ramach projektu EH-REK.

W Radomiu wykonano łącznie 16 rozwiązań z zakresu błękitno-zielonej infrastruktury (BZI), w tym 5 rozwiązań makroskalowych stworzonych na systemach rzecznych oraz 11 rozwiązań mikroskalowych zrealizowanych w przestrzeni miasta. Zastosowane rozwiązania makroskalowe to polder przy rzece Cerekwiance, adaptacja terenu zalewowego na Potoku Północnym w wielofunkcyjny obszar retencyjny czy adaptacja zbiornika Borki poprzez stworzenie dodatkowej pojemności powodziowej w głównej misie zbiornika wraz z systemem biofiltracyjnym w części wlotowej akwenu. Dodatkowo rewitalizacją objęto 750-metrowy odcinek rzeki Mlecznej, w ramach której wzbogacono zróżnicowanie mikrosiedliskowe z jednoczesnym zwiększeniem retencji korytowej. Zastosowane rozwiązania ograniczyły problem powodzi błyskawicznych i poprawiły jakość środowiska wodnego. Sumaryczna retencja uzyskana dzięki zastosowanym rozwiązaniom umożliwia przechwycenie jednorazowo prawie 60.000 m<sup>3</sup> wód opadowych, tym samym zwiększając bezpieczeństwo powodziowe w centrum miasta. Rozwiązania mikroskalowe promujące nowoczesne i proekologiczne formy zagospodarowania wód deszczowych dodatkowo retencjonują wody opadowe z ponad 2.000 m<sup>2</sup> powierzchni utwardzonej miasta, przeciwdziałając przedostaniu się ich do kanalizacji deszczowej, co w skali roku może przyczynić się do retencji krajobrazowej tych wód w ilości nawet 1.200 m<sup>3</sup>.

Jednym z zastosowanych rozwiązań makroskalowych integrujących podejście hydrotechniczne, geochemiczne i mikrobiologiczne była budowa systemu doczyszczającego w celu możliwości pozyskiwania wód z podziemnego kanału A0 w Radomiu, będącego odbiornikiem wód opadowych z terenu miasta. Wody te ze względu na złą jakość były odprowadzane do rzeki Mleczna poniżej zbiornika Borki. Wdrożony system stanowi układ przepuszczalnych barier reaktywnych – PBR (*ang.* Permeable Reactive Barriers) dla podczyszczania wód pozyskiwanych z kanału A0, które służą do zwiększenia przepływu w rzece Mlecznej, zasilając



tym samym zbiornik Borki. Układ tych barier stanowi element systemu hybrydowego składającego się z części podziemnej i naziemnej. Część podziemną obejmuje system ujęcia wód z podziemnego kanału A0 wraz z osadnikiem wirowym i przepompownią. Część naziemną stanowi Sekwencyjny System Sedymentacyjno-Biofiltracyjny (SSSB), rozpoczynający się osadnikiem znajdującym się w miejscu wylotu wody na powierzchnię, układem trzech PBR wykonany z dolomitu, wapienia (narzut kamienny) i preparatu BioKer (sorbent umieszczony w koszach siatkowych) oraz strefą roślinną na odpływie pełniącą funkcję biofiltra. Układ PBR umieszczony został w istniejącym korycie betonowym o długości 112 m stanowiącym wcześniej odprowadzalnik wód z kanału deszczowego. Ostatnim elementem jest biofiltr zbudowany na podłożu piaszczystym wraz ze strefą roślinną o powierzchni ok. 600 m<sup>2</sup>. Przelew do rzeki Mlecznej odbywa się powierzchniowo poprzez całą długość bocznej skarpy biofiltra, wyłożoną kamieniami dolomitowymi.

Zastosowany system PBR skutecznie redukuje ok. 1/3 ładunku fosforanów transportowanych z kanału A0. Uwzględniając część biofiltracyjną, łącznie system usuwa prawie 70% fosforanów. Stężenie fosforanów jest bardzo niskie i nie wpływa negatywnie na jakość wód rzeki Mlecznej. Prawdopodobnie w związku z wysokim stężeniem jonów wapnia w wodzie spływającej kanałem A0 (średnio 116 mg/l), zwiększonym dodatkowo, przez działanie materiałów filtracyjnych, następuje pozytywny efekt spadku stężenia fosforanów (i jednocześnie fosforu ogólnego) w Mlecznej. Dodatkowo, analiza zróżnicowania bakterii (16S rRNA) z uwzględnieniem ich potencjału funkcyjnego, we wszystkich trzech PBR, wskazała na obecność bakterii zdolnych do akumulacji polifosforanów zarówno w wodzie jak i tworzącym się biofilmie. Ponadto zaobserwowano, że wysokie zanieczyszczenie wód w kanale A0 rozpuszczonymi formami azotu nie jest w pełni kompensowane przez materiały filtracyjne. Uzyskana skuteczność systemu w tym zakresie dla jonów azotanowych i amonowych w miesiącu wrześniu (po 3 miesiącach funkcjonowania) wyniosła odpowiednio 11% i 33% i powinna dale wzrastać wraz z rozwojem strefy biofiltracji i biofilmu wewnątrz barier. Wzrost skuteczności redukcji związków azotu zaobserwowany był w strefie biofiltracyjnej. Analizy zróżnicowania filogenetycznego i potencjału funkcyjnego bakterii w PBR wykazały, że szczególnie w biofilmie (w stosunku do wody) wzrasta procentowy udział rodzajów bakterii zdolnych do transformacji azotu, o potencjale do procesów: nitryfikacji, denitryfikacji, anamoksu i komamoksu. Dalsze badania są niezbędne dla udowodnienia długoterminowej skuteczności funkcjonowania systemu i opracowania prac utrzymaniowych, w tym wymiany lub regeneracji złóż.



## Assessment of the potential of permeable reactive barriers in stormwater treatment

T. Jurczak<sup>1</sup>, P. Jarosiewicz<sup>1,2</sup>, A. Font-Najera<sup>2</sup>, J. Mankiewicz-Boczek<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> UNESCO Chair on Ecohydrology and Applied Ecology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, 90–237 Lodz, 12/16 Banacha str.

<sup>2</sup> European Regional Center of Ecohydrology PAS, 90–364 Lodz, 3 Tylna str.  
e-mail: tomasz.jurczak@biol.uni.lodz.pl

*Keywords: permeable reactive barriers, biodegradation, phytoremediation, ecohydrology, water quality, anthropogenic climate change*

More than half of the world's population lives in cities, and these ecosystems are currently particularly affected by the effects of climate change. The problem with periodic floods, the heat island, too fast outflow of water and the transport of pollutants and significantly limited natural resources weaken their natural adaptive abilities, negatively affecting the functioning of cities and the health of residents. As part of the LIFERADOMKLIMA-PL project (2015–2022), Radom, as one of the first cities in Poland, took up the challenge of comprehensively counteracting these unfavorable changes using the potential of river valleys and waters discharged into them from the city area. The starting point for the project activities was the concept of ecohydrology, integrating hydrotechnical and biological solutions implemented in 2010–2015, in the upper section of the Bzura River in Lodz city as part of the EH-REK project.

A total of 16 solutions in the field of blue-green infrastructure (BZI) were implemented in Radom, including 5 macroscale solutions created on river systems and 11 microscale solutions implemented in the city space. The implemented macroscale solutions include a floodplain polder on the Cerekwianka River, adaptation of the floodplain area on Potok Północny into a multifunctional area, and adaptation of the Borki reservoir by creating an additional flood capacity in the main basin of the reservoir along with a biofiltration system in the inlet part of the reservoir. Additionally, revitalization covered a 750-meter section of the Mleczna River, as part of which the microhabitat diversity was enriched with a simultaneous increase in riverbed retention. The applied solutions reduced the problem of flash floods and improved the quality of the water environment. The total retention obtained thanks to the applied solutions enables the interception of almost 60,000 m<sup>3</sup> of the rainwater at a time, thus increasing flood safety in the city center. Microscale solutions promoting modern and nature based solution forms of rainwater management additionally retain rainwater from over 2,000 m<sup>2</sup> of the impermeable area of the city, preventing it from entering the rainwater drainage system, which may contribute to landscape retention of up to 1,200 m<sup>3</sup> of this water per year.

One of the implemented macroscale solutions integrating the hydrotechnical, geochemical and microbiological approach was the construction of a hybrid system in order to obtain water from the underground A0 canal in Radom, which collect the rainwater from the city. Due to poor water quality they were discharged into the Mleczna River below the Borki reservoir, previously. The implemented system create permeable reactive barriers – (PBR) for treatment of water collected from the A0 channel, which are used to increase the flow in the Mleczna River, thus supplying the Borki reservoir. The arrangement of these barriers is part of a hybrid system consisting of an underground and above-ground part. The underground part includes a water intake system from the A0 underground channel with a sedimentation tank (separator)

and a pumping station. The above-ground part is the Sequential Sedimentation and Biofiltration System (SSSB), with a sedimentation section located at the point of water outlet to the surface, a system of three PBR made of dolomite, limestone (stones) and BioKer (sorber placed in mesh baskets) and a plant section located on the system outflow (biofilter). The PBR system was placed in the existing concrete channel with a length of 112 m, which was previously a drainage channel for rain water. The last element is a biofilter built on a sandy substrate with a plant zone of approx. 600 m<sup>2</sup>. The overflow to the Mleczna River takes place over the entire length of the side slope of the biofilter, lined with dolomite stones.

The PBR system effectively reduces 1/3 of the phosphate load transported from the A0 channel. Including the biofiltration section of the system, the total efficiency for phosphates removal was almost 70%. The concentration of phosphates is very low and does not adversely affect the quality of the Mleczna River. Probably due to the high concentration of calcium in the water flowing down the A0 canal (average 116 mg/l), additionally increased by the activity of filtration materials, decrease of concentration of phosphates was observed as a positive element (and at the same time total phosphorus) in Mleczna river. Additionally, the analysis of bacterial diversity (16S rRNA) with regard to their functional potential, in all three PBRs, indicated the presence of bacteria capable of accumulating polyphosphates both in water and in the biofilm being formed. Moreover, high concentration of dissolved forms of nitrogen in water in the A0 channel is not fully compensated by the filtration materials. The efficiency of the system in this respect for nitrate and ammonium in September (after 3 months of operation) amounted to 11% and 33%, respectively, and should continue to increase along with the development of the biofiltration zone and biofilm inside the barriers. An increase of the effectiveness of dissolved form of nitrogen reduction was observed in the biofiltration zone. Analyses of the phylogenetic diversity and functional potential of bacteria in PBR showed that, especially in the biofilm (in relation to water), the percentage of bacteria capable of transforming nitrogen, with the potential for the following processes: nitrification, denitrification, anamox and komamox, increases. Further studies are necessary to confirm the longterm effectiveness of implemented system operation and to develop maintenance works, including replacement or regeneration of sorbents.

## Wstępna analiza wpływu zanieczyszczeń z intensywnego chowu drobiu na zdrowie gleby

**A. Klimkowicz-Pawlas<sup>1</sup>, L. Wolska<sup>3</sup>, E. Olkowska<sup>3</sup>, M. Pecio<sup>1</sup>, A. Gałązka<sup>2</sup>, S. Siebielec<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Czartoryskich 8, 24–100 Puławy

<sup>2</sup> Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Czartoryskich 8, 24–100 Puławy

<sup>3</sup> Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Dębowa 23A St., 80-204 Gdańsk  
e-mail: agnes@iung.pulawy.pl

*Słowa kluczowe: gleby użytkowane rolniczo, wskaźniki biologiczne, intensywna produkcja rol-  
na, zdrowie gleby, ekotoksyczność*

Gleby są podstawowym i nieodnawialnym zasobem naturalnym dostarczającym dóbr i usług niezbędnych dla ekosystemów i życia człowieka. Według Strategii Glebowej (COM 669, 2021) o zdrowiu gleby decydują jej dobre właściwości chemiczne, fizyczne i biologiczne oraz zdolność do świadczenia szeregu usług ekosystemowych, jak: produkcja żywności, dostarczanie energii i surowców, retencjonowanie i oczyszczanie wody, regulacja obiegu składników odżywczych czy siedlisko bioróżnorodności. Na stan gleb w istotny sposób wpływa ciągła presja związana z działalnością przemysłu, rozwojem urbanizacji oraz intensyfikacją rolnictwa, m.in. nadmiernym zużyciem środków ochrony roślin czy intensywną produkcją zwierzęcą. W ostatnich latach obserwujemy gwałtowny wzrost liczby ferm hodowlanych (w tym chowu drobiu), co może wiązać się z występowaniem istotnego zagrożenia zarówno dla środowiska (gleby, wody, powietrze), jak i zdrowia ludzi. To niekorzystne oddziaływanie na środowisko glebowe może być wynikiem bezpośredniej emisji bioaerozoli i związków odorowych z kurników lub niewłaściwej gospodarki odpadami organicznymi (obornikiem lub pomiotem), które mogą zawierać znaczne ilości zanieczyszczeń takich jak: pozostałości pestycydów, hormonów, antybiotyków, geny oporności na antybiotyki oraz szereg pierwiastków śladowych i patogenów (Rayne i Aula, 2020; Grzinić i in., 2023).

Z danych literaturowych wynika, iż dotychczas odpady z produkcji drobiu analizowano głównie pod względem ich wartości nawozowej, niewiele jest natomiast informacji o ich ekotoksyczności oraz wpływie na parametry aktywności biologicznej gleb. Próbki gleb pobrano jesienią z pola, na którym zlokalizowana była przyzma obornika kurzego. We wszystkich próbkach analizowano zawartość makro- i mikroelementów oraz właściwości biologiczne: aktywność dehydrogenaz i fosfataz, biomasę mikroorganizmów i respirację, potencjał nityfikacji oraz profil metaboliczny gleb, wykonano również testy ekotoksykologiczne. Obserwowano istotnie niższą aktywność biologiczną gleb w bezpośrednim sąsiedztwie przyzmy obornika, niekorzystne zmiany w środowisku glebowym zostały również potwierdzone wynikami testów ekotoksykologicznych (np. ostracodtoxkit).

1. COM 699, 2021. Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, The European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions. EU Soil Strategy for 2030. Reaping the benefits of healthy soils for people, food, nature and climate. SWD(2021)323, European Commission, Brussels.

2. Grżinić G., Piotrowicz-Cieślak A., Klimkowicz-Pawlas A., Górny R. L., Ławniczek-Wałczyk A., Piechowicz L., Olkowska E., Potrykus M., Tankiewicz M., Krupka M., Siebielec G., Wolska L. 2023. Intensive poultry farming: A review of the impact on the environment and human health. *Science of the Total Environment*, 858, 160014, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160014>
3. Rayne N., Aula L. 2020. Livestock manure and the impacts on soil health: a review. *Soil Systems*, 4, 64, <https://doi.org/10.3390/soilsystems4040064>

*Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu badawczego nr 2019/35/B/NZ7/04394 'Intensywny chów drobiu – identyfikacja zmian zachodzących w środowisku przyrodniczym i ich wpływ na zdrowie człowieka'.*

## **Preliminary analysis of the impact of contaminants from intensive poultry rearing on soil health**

**A. Klimkowicz-Pawlas<sup>1</sup>, L. Wolska<sup>3</sup>, E. Olkowska<sup>3</sup>, M. Pecio<sup>1</sup>, A. Gałazka<sup>2</sup>, S. Siebielec<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Department of Soil Science Erosion and Land Protection, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Czartoryskich 8, 24–100 Puławy*

<sup>2</sup> *Department of Agricultural Microbiology, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Czartoryskich 8, 24–100 Puławy*

<sup>3</sup> *Department of Environmental Toxicology, Faculty of Health Sciences with Institute of Maritime and Tropical Medicine, Medical University of Gdańsk, Dębowa 23A St., 80-204 Gdańsk  
e-mail: agnes@iung.pulawy.pl*

*Keywords: agriculturally used soils, biological indicators, intensive agricultural production, soil health, ecotoxicity*

Soils are a fundamental and non-renewable natural resource providing goods and services essential for ecosystems and human life. According to the Soil Strategy (COM 669, 2021), soil health is determined by its good chemical, physical and biological properties and its ability to provide a range of ecosystem services, such as food production, provision of energy and raw materials, water retention and purification, regulation of nutrient cycles or habitat for biodiversity. The condition of soils is significantly affected by the continuous pressure from industrial activities, urbanisation development and agricultural intensification, such as excessive use of plant protection products or intensive livestock production. In recent years, there has been a rapid increase in the number of livestock farms (including poultry rearing), which can pose a significant threat to both the environment (soil, water, air) and human health. This adverse impact on the soil environment can be the result of direct emissions of bioaerosols and odour compounds from poultry houses or improper management of organic waste (poultry manure or litter), which can contain significant amounts of contaminants such as pesticide residues, hormones, antibiotics, antibiotic resistance genes and a range of trace elements and pathogens (Rayne and Aula, 2020; Gržinić et al., 2023).

Literature data show that to date, poultry production waste has been analysed mainly in terms of its fertiliser value, while there is little information on its ecotoxicity and effect on soil biological activity parameters. Soil samples were taken in autumn from a field where a pile of chicken manure was located. Macro- and micronutrient content and biological properties were analysed in all samples: dehydrogenase and phosphatase activity, microbial biomass and respiration, nitrification potential and metabolic profile of the soils, and ecotoxicological tests were performed. Significantly lower biological activity of soils in the close vicinity of the manure pile was observed; adverse changes in the soil environment were also confirmed by ecotoxicological tests (e.g. ostracodtoxkit).

1. COM 699, 2021. Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, The European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions. EU Soil Strategy for 2030. Reaping the benefits of healthy soils for people, food, nature and climate. SWD(2021)323, European Commission, Brussels.

2. Grżinić G., Piotrowicz-Cieślak A., Klimkowicz-Pawlas A., Górny R. L., Ławniczek-Wałczyk A., Piechowicz L., Olkowska E., Potrykus M., Tankiewicz M., Krupka M., Siebielec G., Wolska L. 2023. Intensive poultry farming: A review of the impact on the environment and human health. *Science of the Total Environment*, 858, 160014, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160014>
3. Rayne N., Aula L. 2020. Livestock manure and the impacts on soil health: a review. *Soil Systems*, 4, 64, <https://doi.org/10.3390/soilsystems4040064>

*This study was supported by the National Science Centre, Poland, as part of research project No. 2019/35/B/NZ7/04394 'Intensive poultry farming – identification of environmental changes and their impact on human health'.*

## Wpływ bioaugmentacji mikroorganizmami wyspecjalizowanymi w degradacji herbicydów na ich efektywność chwastobójczą

N. Lisiecka<sup>1</sup>, W. Wilms<sup>1</sup>, A. Parus<sup>1</sup>, M. Woźniak-Karczewska<sup>1</sup>, K. Marcinkowska<sup>2</sup>,  
D. Drożdżyński<sup>2</sup>, M. Formela-Luboińska<sup>3</sup>, Ł. Chrzanowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska, ul. Berdychowo 4, 60–965 Poznań

<sup>2</sup> Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Węgorka 20, 60–318 Poznań

<sup>3</sup> Katedra Fizjologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. Wołyńska 35 60–637 Poznań  
e-mail: natalia.lisiecka@doctorate.put.poznan.pl

*Słowa kluczowe: bioaugmentacja, ciecze jonowe, herbicydy*

Metody biologiczne stanowią jedno z rozwiązań umożliwiających skuteczne usuwanie ksenobiotyków ze środowiska. Należy do nich bioaugmentacja, która jest procesem polegającym na zaszczerpieniu gleby mikroorganizmami zdolnymi do degradacji danego ksenobiotyku. Jego przydatność w usuwaniu środków ochrony roślin została potwierdzona przez wielu badaczy na przestrzeni lat [1,2]. Mikroorganizmy wprowadzone do środowiska są jednak podatne na wiele czynników abiotycznych wpływających na ich przeżywalność i zdolności adaptacyjne, np. pH, temperatura, rodzaj gleby, wilgotność i zawartość materii organicznej. Ponadto są one wrażliwe również na czynniki biotyczne i między innymi mogą konkurować z mikroorganizmami autochtonicznymi [3–5].

Celem pracy było zweryfikowanie hipotezy jak bioaugmentacja wpłynie na aktywność chwastobójczą herbicydów oraz zmiany w bioróżnorodności mikroorganizmów. W ramach badań przeprowadzono eksperyment szklarniowy, którego zamierzeniem było sprawdzenie różnic w zachowaniu herbicydów (preparatów komercyjnych oraz herbicydowych cieczy jonowych) wobec chwastów w obecności mikroorganizmów. W badaniach porównano efektywność aplikacji herbicydowych cieczy jonowych zawierających kationy o różnej hydrofobowości oraz substancje aktywne i mieszanki komercyjne. Ponadto oceniono wpływ bioaugmentacji mikroorganizmami wyspecjalizowanymi w degradacji herbicydów na skład zbiorowiska mikroorganizmów w obrębie i w pobliżu roślin. Dla celów porównawczych określono redukcję świeżej masy, pozostałości herbicydów w tkankach roślin oraz poziom stresu oksydacyjnego. Ponadto, różnorodność biologiczną prób badano za pomocą analizy sekwencjonowania fragmentów 16S rRNA MiSeq.

Uzyskane wyniki stresu oksydacyjnego, redukcji świeżej masy i pozostałości herbicydów w tkankach roślin wskazały na znaczne zróżnicowanie efektu herbicydowego w zależności od typu struktury chemicznej użytych środków chwastobójczych. Modyfikacja herbicydów poprzez obecność wybranych kationów, szczególnie o charakterze powierzchniowo-czynnym miało decydujący wpływ na skuteczność chwastobójczą.

Analizy molekularne potwierdziły zwiększenie liczby kopii genów odpowiedzialnych za degradację herbicydów. Co więcej, wyniki świadczą o tym, że wprowadzenie mikroorganizmów znacząco zmieniło bioróżnorodność porównując próby bioaugmentowane i niebioaugmentowane. Na podstawie uzyskanych wyników można potwierdzić, że bioaugmentacja doprowadziła do kolonizacji rośliny przez mikroorganizmy, których aktywność wspomagała usuwanie herbicydów w roślinach. W ten sposób wykazano zwiększoną możliwość interakcji pomiędzy bakteriami posiadającymi geny związane z degradacją herbicydów a roślinami w środowisku poddanym bioaugmentacji.



## Literatura

1. M. Cycoń, A. Mrozik, Z. Piotrowska-Seget, Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review, *Chemosphere*. 172 (2017) 52–71.
2. R. Bidlan, M. Afsar, H.K. Manonmani, Bioremediation of HCH-contaminated soil: elimination of inhibitory effects of the insecticide on radish and green gram seed germination, *Chemosphere*. 56 (2004) 803–811.
3. A. Mrozik, Z. Piotrowska-Seget, Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds, *Microbiol Res*. 165 (2010) 363–375.
4. M. Pacwa-Płociniczak, P. Binińska, K. Bondarczuk, Z. Piotrowska-Seget, Metagenomic Functional Profiling Reveals Differences in Bacterial Composition and Function During Bioaugmentation of Aged Petroleum-Contaminated Soil, *Front Microbiol*. 11 (2020) 1–12.
5. W. Wilms, A. Parus, J. Homa, M. Batycka, M. Niemczak, M. Woźniak-Karczewska, A. Trzebny, J. Zembrzuska, M. Dabert, A. Tancsics, T. Cajthaml, H. Hermann J., H., & Chrzanowski, Ł. Glyphosate versus glyphosate based ionic liquids: Effect of cation on glyphosate biodegradation, soxA and phnJ genes abundance and microbial populations changes during soil bioaugmentation. *Chemosphere*, 316 (2023) 137717.

*Praca została zrealizowana w ramach grantu OPUS 15 ufundowanego przez Narodowe Centrum Nauki na podstawie decyzji 2018/29/B/NZ9/01136.*

## Effect of bioaugmentation with microorganisms specialized in degrading herbicides on their herbicidal efficacy

N. Lisiecka<sup>1</sup>, W. Wilms<sup>1</sup>, A. Parus<sup>1</sup>, M. Woźniak-Karczewska<sup>1</sup>, K. Marcinkowska<sup>2</sup>,  
D. Drożdżyński<sup>2</sup>, M. Formela-Luboińska<sup>3</sup>, Ł. Chrzanowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Chemical Technology and Engineering, Poznan University of Technology, Berdychowo 4, 60–965 Poznan

<sup>2</sup> Institute of Plant Protection – National Research Institute, Węgorza 20, 60–318 Poznań

<sup>3</sup> Department of Plant Physiology, University of Life Sciences, Wołyńska 35, 60–637 Poznań  
e-mail: natalia.lisiecka@doctorate.put.poznan.pl

*Keywords: bioaugmentation, ionic liquids, herbicides*

Biological methods are one of the solutions for effective removal of xenobiotics from the environment. These include bioaugmentation, which is a process involving the inoculation of soil with microorganisms capable of degrading a given xenobiotic. Its usefulness in the removal of plant protection products has been confirmed by many researchers over the years [1,2]. However, microorganisms introduced into the environment are susceptible to a number of abiotic factors that affect their survival and adaptability, such as pH, temperature, soil type, moisture and organic matter content. In addition, they are also sensitive to biotic factors and, among other things, can compete with indigenous microorganisms [3–5].

The purpose of this study was to verify the hypothesis of how bioaugmentation would affect the herbicidal activity of herbicides and changes in microbial biodiversity. In the study, a greenhouse experiment was carried out with the intention of testing differences in the behavior of herbicides (commercial formulations and herbicidal ionic liquids) against weeds in the presence of microorganisms. The study compared the effectiveness of herbicide application of ionic liquids containing cations of different hydrophobicity and active substances and commercial mixtures. In addition, the effect of bioaugmentation with microorganisms specialized in herbicide degradation on the composition of the microbial community within and near plants was evaluated. For comparative purposes, fresh weight reduction, herbicide residues in plant tissues and oxidative stress levels were determined. In addition, the biodiversity of the samples was examined by 16S rRNA MiSeq fragment sequencing analysis.

The results of oxidative stress, fresh weight reduction and herbicide residues in plant tissues indicated that the herbicide effect varied significantly depending on the type of chemical structure of the herbicides used. Modification of herbicides by the presence of selected cations, especially those of a surfactant nature, had a decisive effect on herbicidal efficacy.

Molecular analyses confirmed an increase in the copy number of genes responsible for herbicide degradation. Moreover, the results prove that the introduction of microorganisms significantly changed biodiversity comparing bioaugmented and non-bioaugmented samples. Based on the results, it can be confirmed that bioaugmentation led to the colonization of the plant by microorganisms, whose activity supported the removal of herbicides in plants. Thus, the increased possibility of interaction between bacteria possessing genes associated with herbicide degradation and plants was demonstrated in a bioaugmented environment.

## Literature

1. M. Cycoń, A. Mrozik, Z. Piotrowska-Seget, Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review, *Chemosphere*. 172 (2017) 52–71.
2. R. Bidlan, M. Afsar, H.K. Manonmani, Bioremediation of HCH-contaminated soil: elimination of inhibitory effects of the insecticide on radish and green gram seed germination, *Chemosphere*. 56 (2004) 803–811.
3. A. Mrozik, Z. Piotrowska-Seget, Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds, *Microbiol Res*. 165 (2010) 363–375.
4. M. Pacwa-Płociniczak, P. Binińska, K. Bondarczuk, Z. Piotrowska-Seget, Metagenomic Functional Profiling Reveals Differences in Bacterial Composition and Function During Bioaugmentation of Aged Petroleum-Contaminated Soil, *Front Microbiol*. 11 (2020) 1–12.
5. W. Wilms, A. Parus, J. Homa, M. Batycka, M. Niemczak, M. Woźniak-Karczewska, A. Trzebny, J. Zembrzuska, M. Dabert, A. Tancsics, T. Cajthaml, H. Hermann J., H., & Chrzanowski, Ł. Glyphosate versus glyphosate-based ionic liquids: Effect of cation on glyphosate biodegradation, *soxA* and *phnJ* gene abundance and microbial population changes during soil bioaugmentation. *Chemosphere*, 316 (2023) 137717.

*This work was carried out under the OPUS 15 grant funded by the National Science Center under decision 2018/29/B/NZ9/01136.*

## Biodegradowalna włóknina do zadań specjalnych

L. Madej-Kielbik, K. Gzyra-Jagiela, M. Wiśniewska-Wrona, M. Dymel, J. Józwik-Pruska

Sieć Badawcza Łukasiewicz – Łódzki Instytut Technologiczny  
e-mail: longina.madej-kielbik@lit.lukasiewicz.gov.pl

Słowa kluczowe: Biodegradacja, polimery biodegradowalne, polisacharydy, warstw aktywna

Materiały polimerowe są powszechnie stosowane w wielu gałęziach przemysłu. Przewiduje się, że do 2050 r. ich globalna produkcja przekroczy 500 milionów ton [1]. Aktualnie tworzywa sztuczne produkowane są na bazie syntetycznych materiałów polimerowych, które mają tendencję do gromadzenia się w środowisku w postaci mikroplastiku. Gospodarka odpadami stałymi z tworzyw sztucznych opiera się na ich składowaniu na wysypiskach i spalaniu [2], zaś materiały oparte na polimerach biodegradowalnych pochodzenia naturalnego ulegają procesowi rozkładu substancji organicznych przez mikroorganizmy na prostsze, nieszkodliwe dla środowiska związki tj. dwutlenek węgla i woda (Rysunek 1). Polimery biodegradowalne – biopolimery coraz częściej zastępują tradycyjne materiały polimerowe dzięki temu można je wykorzystać w różnych dziedzinach życia, jak również do zastosowań medycznych.

Biodegradowalność polimerów jest ważnym czynnikiem zamknięcia obiegu w gospodarce cyrkularnej. Celem gospodarki obiegu zamkniętego jest czysta produkcja pozbawiona substancji toksycznych umożliwiająca krążenie produktów i materiałów w obiegu zamkniętym, bez zagrażania zdrowia i czystości środowiska, przy zachowaniu jakości produktu.



Rysunek 1. Cykl życia polimerów biodegradowalnych w kontekście gospodarki cyrkularnej [3]

Przedmiotem rozwiązania jest biodegradowalna włóknina oraz włóknina z warstwą antypatogenową wytworzoną na bazie biopolimeru pochodzenia naturalnego z grupy polisacharydów – chitozanu. Chitozan ze względu na specyficzne właściwości biologiczne takie jak:

bioaktywność, biokompatybilność, biogodność, zdolność do biodegradacji, częściowa resorpcja w obrębie rany oraz sposób oddziaływania z lekami, jest powszechnie stosowany w różnych zastosowaniach medycznych.

Włókninę wytworzono z komponentów w pełni biodegradowalnych z wykorzystaniem metody spun-bonded, zaś warstwę aktywną zaaplikowano przy użyciu aerografu. Materiał poddano badaniom mikrobiologicznym oraz procesowi biodegradacji w środowisku kompostu zgodnie z obowiązującymi przepisami normatywnymi. Przeprowadzone badania wykazały, że:

- włóknina bez warstwy aktywnej nie wykazuje działania antybakteryjnego, zaś
- włóknina z warstwą aktywną wykazuje silne działanie przeciwbakteryjne przeciwko *S. aureus* oraz *E. coli*.

Ubytek masy włókniny po 24 tygodniach biodegradacji w kompoście wynosi 91% masy. Wytworzony produkt ulega rozkładowi mikrobiologicznemu, stanowiąc alternatywę dla obecnie stosowanych materiałów polipropylenowych, które są powodem zanieczyszczeń środowiska wprowadzając do niego mikroplastik. Odpady te coraz częściej są niewłaściwie zagospodarowywane w związku z czym wzrasta skala ich negatywnego oddziaływania na środowisko. Do produkcji biodegradowalnej włókniny wykorzystano „podwójnie zielone polimery”, w związku z czym opracowany produkt ogranicza koszty związane z utylizacją lub składowaniem odpadów, a jednocześnie wpisuje się w światowe trendy w zakresie produkcji wyrobów jednorazowego użytku. Wypracowany produkt wpisuje się w schemat obecnie pożądanej w Unii Europejskiej gospodarki cyrkularnej – po procesie użytkowania trafia do środowiska naturalnego w bezpiecznej formie.

## Literatura

1. H. Sardon, A.P. Dove, Plastics recycling with a difference. *Science* 2018, 360, 380–381.
2. H. Duan, G. Song, S. Qu, X. Dong, M. Xu, Post-consumer packaging waste from express delivery in China. *Resour Conserv Recycl* 2019, 144, 137–143.
3. R. Dziuba, M. Kucharska, L. Madej-Kiełbik, K. Sulak, and M. Wiśniewska-Wrona, Biopolymers and biomaterials for special applications within the context of the circular economy, *Materials* 2021, 14, 1–15.

## Biodegradable nonwoven for special applications

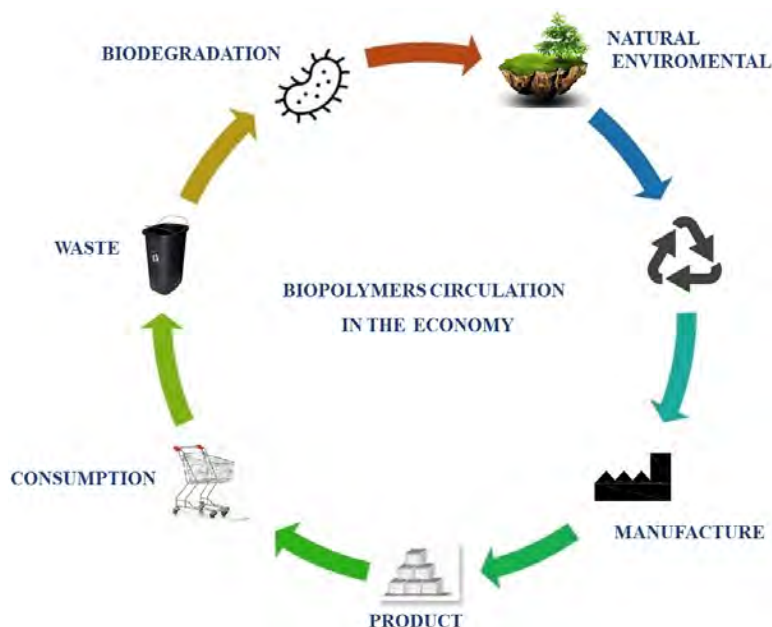
L. Madej-Kielbik, K. Gzyra-Jagiela, M. wiśniewska-Wrona, M. Dymel, J. Jóźwik-Pruska

Lukasiewicz – Lodz Institute of Technology  
 e-mail: longina.madej-kielbik@lit.lukasiewicz.gov.pl

*Keywords: Biodegradation, biodegradable polymers, polysaccharides, active layer*

Polymer materials are widely used in many industries. Their global production is expected to exceed 500 million tons by 2050 [1]. Currently, plastics are produced on the basis of synthetic polymeric materials, which tend to accumulate in the environment in the form of microplastics. Solid plastic waste management is based on landfilling and incineration [2], while materials based on biodegradable polymers of natural origin undergo a process of decomposition of organic substances by microorganisms into simpler, environmentally harmless compounds, i.e. carbon dioxide and water (Figure 1). Biodegradable polymers – biopolymers are increasingly replacing traditional polymeric materials thanks to which they can be used in various areas of life, as well as for medical applications.

Biodegradability of polymers is an important factor in closing the loop in the circular economy. The goal of the circular economy is clean production free of toxic substances allowing products and materials to circulate in a closed loop, without endangering the health and cleanliness of the environment, while maintaining product quality.



**Figure 1.** Life cycle of biodegradable polymers within the context of circular economy [3]

The subject of the solution is a biodegradable nonwoven fabric and a nonwoven fabric with an anti-pathogen layer produced on the basis of a biopolymer of natural origin from the group of polysaccharides – chitosan. Chitosan, due to its specific biological properties such as bioactivity, biocompatibility, biodegradability, partial resorption within the wound and the way it interacts with drugs, is widely used in various medical applications.

The nonwoven material was manufactured from fully biodegradable components using a spun-bonded method, while the active layer was applied using an airbrush. The material was subjected to microbiological testing and biodegradation in a compost environment in accordance with current normative regulations. The tests conducted showed that:

- nonwoven fabric without an active layer does not show antibacterial activity,
- nonwoven fabric with active layer shows strong antimicrobial activity against *S. aureus* and *E. coli*.

The weight loss of the nonwoven after 24 weeks of biodegradation in the compost is 91% by weight. The product produced is microbiologically decomposable, providing an alternative to current polypropylene materials, which are the cause of environmental pollution by introducing microplastics into the environment. This waste is increasingly being improperly managed, so the scale of its negative impact on the environment is increasing. For the production of biodegradable nonwoven fabric, “double green polymers” were used, so the developed product reduces the costs associated with the disposal or storage of waste, and at the same time fits in with global trends in the production of disposable products. The developed product fits into the scheme of the circular economy currently desired in the European Union – after the process of use it goes to the environment in a safe form.

## Literature

1. H. Sardon, A.P. Dove, Plastics recycling with a difference. *Science* 2018, 360, 380–381.
2. H. Duan, G. Song, S. Qu, X. Dong, M. Xu, Post-consumer packaging waste from express delivery in China. *Resour Conserv Recycl* 2019, 144, 137–143.
3. R. Dziuba, M. Kucharska, L. Madej-Kiełbik, K. Sulak, and M. Wiśniewska-Wrona, Biopolymers and biomaterials for special applications within the context of the circular economy, *Materials* 2021, 14, 1–15.

## Subletalne efekty działania leków przeciwdepresyjnych u organizmów planktonowych

G. Nałęcz-Jawecki, J. Chojnacka, Z. Czuba, N. Leszczyńska A. Drobniewska

Wydział Farmaceutyczny Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Zakład Toksykologii i Bromatologii, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa  
e-mail: grzegorz.nalecz-jawecki@wum.edu.pl

Słowa kluczowe: leki przeciwdepresyjne, serotonina, pierwotniaki, skorupiaki

Rosnące zapotrzebowanie na leki przeciwdepresyjne w krajach europejskich, w tym w Polsce, skutkuje zwiększoną ich obecnością w ściekach i wodach powierzchniowych. Leki te, z uwagi na ich dobrą rozpuszczalność w wodzie i wysoką trwałość stanowią zagrożenie dla organizmów wodnych. Analizy z użyciem biotestów na organizmach wodnych wskazują, iż wartości LC50 zawierają się w granicach 0,1–5 mg/L, co klasyfikuje te związki jako jedne z najbardziej toksycznych grup leków pod względem toksyczności ostrej.

Mechanizm leczniczego działania dużej części leków przeciwdepresyjnych obejmuje wpływ na aminy biogenne (np. serotoninę oraz noradrenalinę). Aminy te występują nie tylko u kręgowców, ale także w organizmach niższych i regulują wiele procesów życiowych związanych między innymi z reprodukcją, wzrostem i pobieraniem pokarmu. Wiele doniesień literaturowych wskazuje na silny wpływ leków przeciwdepresyjnych, zwłaszcza z grupy selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI), na zachowanie organizmów wodnych, ich sposób poruszania oraz wzajemne oddziaływanie ofiara/drapieżnik.

Badania własne prowadzono na pierwotniakach oraz skorupiakach planktonowych. Oceniano wpływ wybranych leków przeciwdepresyjnych na pobieranie pokarmu przez skorupiaki *Thamnocephalus platyurus* oraz tworzenie wodniczek pokarmowych przez orzęski: *Spirostomum ambiguum* i *Tetrahymena thermophila*. Zaobserwowano, iż efekty toksyczne występowały w stężeniach leków wielokrotnie niższych, niż stężenia powodujące klasyczne efekty obserwowane w standardowych testach oceny toksyczności: Thamnotoxtit F, Spirotox i Protoxkit F. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność wprowadzenia do standardowych testów dodatkowych procedur, które mogą dostarczyć cennych informacji na temat subletalnych oddziaływań badanych substancji wobec klasycznych organizmów testowych.

Badania sfinansowano z grantu Narodowego Centrum Nauki, numer 2019/35/B/NZ8/01388.



## Oddziaływanie intensywnego chowu drobiu na ekotoksyczność wód i gleb

E. Olkowska<sup>1</sup>, M. Cieszyńska-Semenowicz<sup>1</sup>, A. Klimkowicz-Pawlas<sup>2</sup>, L. Łęczyński<sup>3</sup>,  
L. Wolska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z IMMiT, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębowa 23A, 80–204 Gdańsk

<sup>2</sup> Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, ul. Czartoryskich 8, 24–100 Puławy

<sup>3</sup> Zakład Geofizyki, Instytut Oceanografii, Uniwersytet Gdański, ul. Piłsudskiego 46, 81–378 Gdynia  
e-mail: ewa.olkowska@gumed.edu.pl

*Słowa kluczowe: intensywny chów drobiu, ekotoksyczność, wody, gleby*

W ostatnich latach na terenie Polski obserwuje się znaczący wzrost liczby ferm intensywnego chowu. Od 2015r. Polska stała się liderem produkcji drobiu (głównie drobiu kurzego) na terenie Unii Europejskiej. W 2022r. na terenie Polski wyprodukowano ponad 2,7 mln ton mięsa drobiowego, co stanowi ok. 18% produkcji drobiu na terenie EU [1]. Intensywny chów drobiu może powodować szereg negatywnych efektów środowiskowych i zdrowotnych wynikających z generowania zagrożeń fizycznych, chemicznych oraz biologicznych. Produkcja drobiu, przechowywanie i stosowanie obornika w rolnictwie są powiązane z wprowadzaniem do środowiska m.in. pyłów, amoniaku, tlenków azotu, metanu, odorów, nadmiarowych ilości azotu i fosforu, metali, pozostałości pestycydów, farmaceutyków, mikroorganizmów w tym lekoopornych bakterii. Doniesienia literaturowe wskazują, że oddziaływanie zanieczyszczeń emitowanych z ferm ma wpływ na stan powietrza zewnętrznego oraz równowagę środowiska wodnego i glebowego (m.in. zakwity alg, eutrofizacja zbiorników, wpływ na rozwój i procesy fizjologiczne roślin). Ponadto obserwowany jest negatywny wpływ na zdrowie pracowników i osób mieszkających otoczeniu ferm (m.in. oddziaływanie na układ oddechowy, podrażnienia skóry i oczu) [2].

Ocena oddziaływania intensywnego chowu drobiu na środowisko jest złożonym i kosztownym procesem wymagającym identyfikacji szeregu zanieczyszczeń fizycznych, chemicznych, biologicznych oraz ich oznaczenia. Ponadto, oznaczanie poziomu poszczególnych parametrów nie pozwala na ocenę skutków ich działania na organizmy żywe i ekosystemy (m.in. ze względu na nowo pojawiające się zanieczyszczenia, efekt współoddziaływania mieszanin). Zastosowanie badań ekotoksykologicznych (ekotoksyczność wód i gleb) może stanowić cenne źródło kompleksowej informacji o stanie środowiska poddanego działaniom antropogenicznym [3] m.in. pochodzącym z ferm drobiu.

Celem niniejszego badania była ocena ekotoksyczności wód podziemnych oraz gleb pobranych na terenie fermy drobiu. W pracy badawczej wykorzystano odpowiednio następujące testy ekotoksykologiczne do próbek ciekłych i stałych: Microtox (*Aliivibrio fischeri*), Daphtoxkit F (*Daphnia magna*), Ostracodtoxkit F (*Heterocypris incongruens*), Thamnotoxkit F (*Thamnocephalus platyurus*), Rotoxkit F (*Brachionus plicatilis*), Rapidtoxkit (*Thamnocephalus platyurus*), Phytotoxkit (*Sinapis alba*).

## Literatura

1. <https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/tag00043/default/table?lang=en> (dostęp 18.03.2023).
2. Gržinić G, Piotrowicz-Cieślak A, Klimkowicz-Pawlas A, et al. Intensive poultry farming: A review of the impact on the environment and human health. *Sci Total Environ.* 858 (2023) 160014.
3. Schuijt LM, Peng F-J, van den Berg SJP, et al. (Eco)toxicological tests for assessing impacts of chemical stress to aquatic ecosystems: Facts, challenges, and future *Sci Total Environ.* 795 (2021) 148776.

## Podziękowania

*Badania naukowe zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki (2019/35/B/NZ7/04394).*

## Impact of intensive poultry farming on ecotoxicity of water and soil

E. Olkowska<sup>1</sup>, M. Cieszyńska-Semenowicz<sup>1</sup>, A. Klimkowicz-Pawlas<sup>2</sup>, L. Łęczyński<sup>3</sup>,  
L. Wolska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Environmental Toxicology, Faculty of Health Sciences with IMTM, Medical University of Gdansk, Dębowa 23A, 80–204 Gdańsk, Poland

<sup>2</sup> Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Department of Soil Science Erosion and Land Protection, Czartoryskich 8, 24–100 Puławy, Poland

<sup>3</sup> Department of Geophysics, Institute of Oceanography, University of Gdańsk, Piłsudskiego 46, 81–378, Gdynia, Poland

e-mail: ewa.olkowska@gumed.edu.pl

*Keywords: intensive poultry farming, ecotoxicity, waters, soil*

In recent years, a significant increase in the number of intensive breeding farms has been observed in Poland, which since 2015 has become the leader in the production of poultry (mainly chicken) in the European Union. In 2022 Poland produced over 2.7 million tons of poultry meat, which is about 18% of poultry production in the EU [1]. Intensive poultry farming can cause numerous negative environmental and health effects resulting from the generation of physical, chemical and biological hazards. Poultry production, storage and manure use in agriculture are associated with the introduction into the environment of, among others, dust, ammonia, nitrogen oxides, methane, odors, excess amounts of nitrogen and phosphorus, metals, pesticide residues, pharmaceuticals, microorganisms (including drug-resistant bacteria). Literature reports indicate that pollutants emitted from farms affect the condition of the external air and the balance of the water and soil environment (e.g. algae blooms, eutrophication of reservoirs, development and physiological processes of plants). In addition, a negative impact on the health of employees and residents is observed in the vicinity of farms (e.g. impact on the respiratory system, skin and eye irritation) [2].

Assessment of the impact of intensive poultry farming on the environment is a complex and expensive process requiring the identification of many physical, chemical and biological contaminants. In addition, the determination of individual parameters does not necessarily allow for the full assessment of their effects on living organisms and ecosystems (e.g. due to newly emerging pollutants, interaction effect of mixtures). The use of water and soil ecotoxicity tests can be one of the sources of information necessary to build a comprehensive image of the condition of the environment exposed to anthropogenic activities [3], e.g. from poultry farms.

The aim of this study was to assess the ecotoxicity of groundwater and soil samples collected from a poultry farm. The following ecotoxicological tests for liquid and solid samples were used: Microtox (*Aliivibrio fischeri*), Daphtoxkit F (*Daphnia magna*), Ostracodtoxkit F (*Heterocypris incongruens*), Thamnotoxkit F (*Thamnocephalus platyurus*), Rotoxkit F (*Brachionus plicatilis*), Rapidtoxkit (*Thamnocephalus platyurus*), Phytotoxkit (*Sinapis alba*).

## Literature

1. <https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/tag00043/default/table?lang=en> (last accessed 18/03/2023).
2. Gržinić G, Piotrowicz-Cieślak A, Klimkowicz-Pawlas A, et al. Intensive poultry farming: A review of the impact on the environment and human health. *Sci Total Environ.* 858 (2023) 160014.
3. Schuijt LM, Peng F-J, van den Berg SJP, et al. (Eco)toxicological tests for assessing impacts of chemical stress to aquatic ecosystems: Facts, challenges, and future *Sci Total Environ.* 795 (2021) 148776.

## Acknowledgments

*This work was financially supported by the National Science Centre, Poland (2019/35/B/NZ7/04394).*

## Wpływ modyfikacji struktury herbicydów na zmniejszenie ich mobilności w glebie

A. Parus, N. Lisiecka, M. Woźniak-Karczewska, M. Niemczak, Ł. Chrzanowski

*Institutoo Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska, ul. Berdychowo 4, 60–965 Poznań*

*e-mail: anna.prarus@put.poznan.pl*

*Słowa kluczowe: ciecze jonowe, sorpcja, mobilność, biodegradacja*

Herbicydy to duża grupa związków stosowanych w zabiegach agrotechnicznych. Wśród najczęściej używanych można wymienić pochodne kwasu fenoksyoctowego (2,4-D; MCPA), benzoesowego (dikamba) czy fosfonianów (glifosat). Związki te wymagają stosowania adjuwantów, które umożliwią m.in. lepsze przyleganie do powierzchni liści oraz wnikanie do rośliny. Jedynie niewielka ilość, bo około 5% dozowanej dawki trafia na roślinę, natomiast pozostałość przedostaje się do gleby lub jest porywana i przenoszona wraz z powietrzem na inne obszary. W glebie, herbicydy, podobnie jak inne ksenobiotyki ulegają różnego rodzaju procesom, m.in. sorpcji, migracji oraz degradacji.

MCPA, dikamba, czy 2,4-D to substancje należące do grupy herbicydów słabo sorbujących się i łatwo migrujących w profilu glebowym. Natomiast glifosat wykazuje znaczną sorpcję oraz mniejszą tendencję do przemieszczania się w glebie. Częstym problemem związków herbicydowych jest również ich duża lotność. Nowa generacja herbicydów jakimi są herbicydowe ciecze jonowe (HILs) wydaje się wychodzić naprzeciw tym problemom. Jest to związane z dużą ilością możliwości doboru kationu i anionu, dzięki czemu można otrzymać związki o pożądanych właściwościach. Łącząc hydrofobowy kation o właściwościach powierzchniowo-czynnych oraz anion o właściwościach herbicydowych uzyskujemy związek spajający dwie bardzo istotne cechy dla herbicydów. Dodatkowo wprowadzając hydrofobowy kation przyjmuje się, że tym samym hydrofobowość całego związku zostaje zwiększona, co może przekładać się na zmniejszenie przemieszczania się anionu herbicydowego w glebie, a także zmniejszenie ich lotności [1,2]. Ciecze jonowe często są opisywane jako tzw. „zielone związki” o niskim wpływie na środowisko. Jednak dopiero niedawno zaczęto analizować kwestie związane z ich toksycznością i potencjalnym wpływem na środowisko naturalne [3]. Pomimo ogromnej ilości opublikowanych badań, zachowanie kationu i anionu w środowisku nadal pozostaje nieznanne.

Nasze badania weryfikują informacje związane z postulowanymi zmianami właściwości anionów poprzez dobór odpowiedniego kationu, udzielając odpowiedzi na pytania:

– Czy herbicydy w postaci cieczy jonowych stanowią integralną całość?

- Czy wprowadzenie hydrofobowych czwartorzędowych kationów do struktury cieczy jonowych powoduje zwiększenie hydrofobowości całej cząsteczki herbicydu?
- Czy struktura kationu wpływa na sorpcję herbicydowego anionu i tym samym na zatrzymanie herbicydu w powierzchniowych warstwach gleby?

Realizując badania ocenie poddano sorpcję, mobilność, biodostępność oraz potencjał biodegradacyjny cieczy jonowych na bazie herbicydów MCPA, 2,4-D, dikamba oraz glifosat w środowisku glebowym.

Badania sorpcji oraz wymywania herbicydowych cieczy jonowych przeprowadzono dla różnych gleb rolniczych oraz podłoża referencyjnego OECD. Jako próbę odniesienia zastosowano sól sodową lub potasową danego herbicydu. Otrzymane wyniki wskazują, iż kationy

i herbicydowe aniony sorbują się w glebie niezależnie od siebie. Ponadto struktura kationu, przede wszystkim wprowadzenie hydrofobowych łańcuchów lub pierścienia aromatycznego, wpływa głównie na zwiększenie sorpcji samego kationu. Natomiast w przypadku sorpcji herbicydowych anionów typu dikamba, MCPA, 2,4-D czy glifosat, nie obserwuje się zwiększenia sorpcji z roztworów herbicydowych cieczy jonowych [4–6]. Nieznaczny wzrost ilości zaadsorbowanego anionu zanotowano dla cieczy jonowych zawierających anion dikamba oraz MCPA i kationy cholinowe, lecz zjawisko to jest wynikiem modyfikacji struktury sorbentu (gleby), a nie powoduje tego modyfikacja struktury związku. Zjawisko to potwierdzają badania kolumnowe, w których analizowano wymywalność i mobilność kationów i anionów w profilu glebowym [4–6]. Uzyskane wyniki potwierdziły, iż herbicydowe cieczy jonowe, po przedostaniu się do gleby, nie stanowią integralnej całości, lecz przemieszczają się niezależnie od siebie.

Dla lepszego zobrazowania zjawisk sorpcji analizowanych związków w różnych glebach, wyznaczono izotermy adsorpcji Freundlicha. Uzyskane różnice w wartościach  $K_f$  pomiędzy poszczególnymi glebami rolniczymi oraz dla podłoża OECD wynikają przede wszystkim z tego, że gleby te różnią się takimi parametrami jak pojemność wymiany kationów, zawartość gliny oraz węgla organicznego, a także pH [4–6].

W trakcie przeprowadzonych doświadczeń oceniono również wpływ kationów na degradację anionów herbicydowych (glifosatu oraz 2,4-D). Mimo że pierwotna biodegradacja kationów była wysoka, nie wynikała ona z ich mineralizacji w glebie, lecz z procesów sorpcji i desorpcji. Próbkę zawierającą kationowe środki powierzchniowo-czynne, w przeciwieństwie do anionu glifosatu oraz 2,4-D, okazały się silnie sorbowane w glebie, co przekładało się na znacznie niższą biodostępność i niską efektywność mineralizacji. Uzyskane wyniki wykazały, że kationy i aniony mogą w rzeczywistości działać jako odrębne cząsteczki w procesie degradacji anionów herbicydowych. Ponadto, brak wyraźnych trendów w strukturze bakterii poddanych działaniu herbicydowych cieczy jonowych był kolejnym silnym wskazaniem, że w środowisku lądowym zachowują się one bardziej jak roztwory solwatowanych, niezależnych jonów, niż pary jonowe o unikalnych właściwościach [6,7].

Podsumowując, modyfikacja struktury herbicydów poprzez ich połączenie z kationami o różnej hydrofobowości nie przyczynia się do ograniczenia mobilności anionu herbicydowego w środowisku glebowym. Natomiast hydrofobowe kationy są silnie sorbowane i jedynie w niewielkiej ilości wymywane z warstwy powierzchniowej gleby, co potencjalnie przyczynia się do skażenia warstwy powierzchniowej gleby.

*Praca została zrealizowana w ramach grantu OPUS 15 ufundowanego przez Narodowe Centrum Nauki na podstawie decyzji 2018/29/NZ9/01136.*

## Literatura

1. L.S. Riter, N. Pai, B.C. Vieira, A. MacInnes, R. Reiss, C.J. Hapeman, R.G. Kruger (2021) Conversations about the future of dicamba: the science behind off-target movement, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69(48): 14435–14444A.
2. P. Stepnowski, W. Mrozik, J. Nichthausen (2007) Adsorption of alkyylimidazolium and alkyipyridinium ionic liquids onto natural soils, *Environmental Science Technology* 41: 511–516.
3. M. Markiewicz, A. Markowska, J. Hupka, R. Aranowski (2009) Sorption of ionic liquids, *Environment Protection Engineering* 35: 53–64.
4. A. Parus, N. Lisiecka, J. Zembruska, G. Faramski, M. Woźniak-Karczewska, M. Niemczak (2022) Evaluation of the influence of different cations on the mobility and performance of dicamba-based ionic liquids, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 10(5): 108397-1-108397-12.

5. M. Woźniak-Karczewska, A. Parus, T. Ciesielski, A. Trzebny, R. Szumski, W. Wilms, J. Homa, G. Framski, D. Baranowski, R. Frankowski, A. Zgoła-Grześkowiak, M. Niemczak, M. Dabert, A. Tánicsics, Ł. Chrzanowski (2023) Effect of Cation Sorption on 2,4-D Mobility of Herbicidal Ionic Liquids in Agricultural Soil Combined with Diversity of the Bacterial Community. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 10(38): 12559–12568.
6. A. Parus, O. Zdebelak, T. Ciesielski, R. Szumski, M. Woźniak-Karczewska, G. Framski, D. Baranowski, M. Niemczak, J. Zembrzuska, T. Cajthaml, H.J. Heipieper, Ł. Chrzanowski (2023) Can ionic liquids exist in the soil environment? Effect of quaternary ammonium cations on glyphosate sorption, mobility and toxicity in the selected herbicidal ionic liquids, *Journal of Molecular Liquids* 370: 120981.
7. W. Wilms, A. Parus, J. Homa, M. Batycka, M. Niemczak, M. Woźniak-Karczewska, A. Trzebny, J. Zembrzuska, M. Dabert, Andras' Tancsic, T. Cajthaml, H. J. Heipieper, Ł. Chrzanowski (2023) Glyphosate versus glyphosate based ionic liquids: Effect of cation on glyphosate biodegradation, soxA and phnJ genes abundance and microbial populations changes during soil bioaugmentation, *Chemosphere* 316: 137717.

## The effect of modifying the structure of herbicides on reducing their mobility in the soil

A. Parus, N. Lisiecka, M. Woźniak-Karczewska, M. Niemczak, Ł. Chrzanowski

*Institute of Chemical Technology and Engineering, Poznan University of Technology,  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
e-mail: anna.prarus@put.poznan.pl*

*Keywords: ionic liquids, sorption, mobility, biodegradation*

Herbicides are a large group of compounds used in agronomic treatments. Among the most commonly used are derivatives of phenoxyacetic acid (2,4-D; MCPA), benzoic acid (dicamba) or phosphonates (glyphosate). These compounds require the use of adjuvants to enable, among other things, better adhesion to the leaf surface and penetration into the plant. Only a small amount, about 5% of the dosed dose ends up on the plant, while the rest gets into the soil or is entrained and carried with the air to other areas. In the soil, herbicides, like other xenobiotics, undergo various processes, including sorption, migration and degradation.

MCPA, dicamba, or 2,4-D are substances belonging to the group of herbicides that sorb poorly and migrate easily in the soil profile. Glyphosate, on the other hand, shows significant sorption and less tendency to move in the soil. A common problem with herbicide compounds is also their high volatility. The new generation of herbicides that are herbicide ionic liquids (HILs) seems to address these problems. This is due to the large number of choices of cation and anion, so that compounds with the desired properties can be obtained. By combining a hydrophobic cation with surfactant properties and an herbicide anion, we obtain a compound that welds together two very important characteristics for herbicides. In addition, by introducing a hydrophobic cation, it is assumed that the hydrophobicity of the whole compound is thereby increased, which can result in reduced movement of the herbicide anion in the soil, as well as a reduction in their volatility [1,2]. Ionic liquids are often described as green compounds with low environmental impact. However, it is only recently that issues related to their toxicity and potential environmental impact have begun to be analyzed [3]. Despite the vast amount of published research, the behavior of cation and anion in the environment still remains unknown.

Our research verifies the information related to the postulated changes in the properties of anions by selecting the appropriate cation, answering the questions:

- Do herbicides in the form of ionic liquids form an integral whole?
- Does the introduction of hydrophobic quaternary cations increase the hydrophobicity of the entire herbicide molecule?
- Does the structure of the cation affect the sorption of the herbicide anion and thus the retention of the herbicide in the surface layers of the soil?

In carrying out the study, the sorption, mobility, bioavailability and biodegradation potential of ionic liquids based on the herbicides MCPA, 2,4-D, Dicamba and glyphosate in the soil environment were evaluated.

Studies of sorption and leaching of herbicide ionic liquids were conducted for various agricultural soils and an OECD reference substrate. The sodium or potassium salt of the herbicide in question was used as a reference sample. The results obtained indicate that cations and herbicide anions sorb in the soil independently of each other. In addition, the structure of the



cation, primarily the introduction of hydrophobic chains or an aromatic ring, mainly increases the sorption of the cation itself. In contrast, no increase in sorption from herbicide solutions of ionic liquids is observed for herbicide anions such as dicamba, MCPA, 2,4-D or glyphosate [4–6]. A slight increase in the amount of adsorbed anion was recorded for ionic liquids containing dicamba anion and MCPA and choline cations, but this phenomenon is the result of modification of the structure of the sorbent (soil), and is not caused by modification of the structure of the compound. This phenomenon is confirmed by column studies that analyzed the leachability and mobility of cations and anions in the soil profile [4–6]. The results confirmed that herbicide ionic liquids, once they enter the soil, do not form an integral whole but move independently of each other.

To better illustrate the sorption phenomena of the analyzed compounds in different soils, Freundlich adsorption isotherms were determined. The obtained differences in  $K_f$  values between different agricultural soils and for the OECD substrate are mainly due to the fact that these soils differ in such parameters as cation exchange capacity, clay and organic carbon content, and pH [4–6].

The experiments also evaluated the effect of cations on the degradation of herbicide anions (glyphosate and 2,4-D). Although the primary biodegradation of cations was high, it was not due to their mineralization in the soil, but to sorption and desorption processes. Samples containing cationic surfactants, unlike the glyphosate anion and 2,4-D, proved to be highly sorbed in the soil, which translated into much lower bioavailability and low mineralization efficiency. The results showed that cations and anions can actually act as separate molecules in the degradation of herbicide anions. Moreover, the lack of clear trends in the structure of bacteria treated with herbicide ionic liquids was another strong indication that in terrestrial environments they behave more like mixtures of independent ions than ion pairs with unique properties [6,7].

In conclusion, modifying the structure of herbicides by introducing cations with different hydrophobicity does not contribute to reducing the mobility of the herbicide anion in the soil environment. On the other hand, hydrophobic cations are sorbed and only leached in small amounts from the soil surface layer, potentially contributing to contamination of the soil surface layer.

*The work was carried out under an OPUS 15 grant funded by the National Science Center by decision 2018/29/NZ9/01136.*

## References

1. L.S. Riter, N. Pai, B.C. Vieira, A. MacInnes, R. Reiss, C.J. Hapeman, R.G. Kruger (2021) Conversations about the future of dicamba: the science behind off-target movement, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69(48): 14435–14444A.
2. P. Stepnowski, W. Mroziński, J. Nichthauser (2007) Adsorption of alkyimidazolium and alkyipyridinium ionic liquids onto natural soils, *Environmental Science Technology* 41: 511–516
3. M. Markiewicz, A. Markowska, J. Hupka, R. Aranowski (2009) Sorption of ionic liquids, *Environment Protection Engineering* 35: 53–64.
4. A. Parus, N. Lisiecka, J. Zembruska, G. Faramski, M. Woźniak-Karczewska, M. Niemczak (2022) Evaluation of the influence of different cations on the mobility and performance of dicamba-based ionic liquids, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 10(5): 108397-1-108397-12.

5. M. Woźniak-Karczewska, A. Parus, T. Ciesielski, A. Trzebny, R. Szumski, W. Wilms, J. Homa, G. Framski, D. Baranowski, R. Frankowski, A. Zgoła-Grześkowiak, M. Niemczak, M. Dabert, A. Tánicsics, Ł. Chrzanowski (2023) Effect of Cation Sorption on 2,4-D Mobility of Herbicidal Ionic Liquids in Agricultural Soil Combined with Diversity of the Bacterial Community. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 10(38): 12559–12568.
6. A. Parus, O. Zdebelak, T. Ciesielski, R. Szumski, M. Woźniak-Karczewska, G. Framski, D. Baranowski, M. Niemczak, J. Zembrzuska, T. Cajthaml, H.J. Heipieper, Ł. Chrzanowski (2023) Can ionic liquids exist in the soil environment? Effect of quaternary ammonium cations on glyphosate sorption, mobility and toxicity in the selected herbicidal ionic liquids, *Journal of Molecular Liquids* 370: 120981.
7. W. Wilms, A. Parus, J. Homa, M. Batycka, M. Niemczak, M. Woźniak-Karczewska, A. Trzebny, J. Zembrzuska, M. Dabert, Andras' Tancsic, T. Cajthaml, H. J. Heipieper, Ł. Chrzanowski (2023) Glyphosate versus glyphosate based ionic liquids: Effect of cation on glyphosate biodegradation, soxA and phnJ genes abundance and microbial populations changes during soil bioaugmentation, *Chemosphere* 316: 137717.



## **Przegląd rozwiązań ekotoksykologicznych i metod molekularnych dla potrzeb badań środowiskowych i instalacji przemysłowych**

**G. Piętowski**

*TIGRET SP. Z O. O., ul. Warszawska 27, 02–495 Warszawa  
e-mail: gp@tigret.eu*

*Słowa kluczowe: ekotoksykologia, ocena ryzyka toksykologicznego, metody biologiczne i molekularne*

Zarówno w badaniach środowiskowych jak i w monitoringu procesów przemysłowych wykorzystywane są testy biologiczne dające inny, szerszy obraz jakości próbki niż badania chemiczne. Wykorzystywane są testy ekotoksykologiczne (m.in. dla oceny jakości ścieków i wód procesowych), testy do oceny ryzyka toksykologicznego (m.in. dla pierwszej oceny zagrożeń), metody immunoenzymatyczne (dla niedrogich, szybkich badań przesiewowych), metody molekularne (dla oceny genotoksyczności, mutagenności, aktywności hormonalnej), metody ATP (dla oceny sumy zanieczyszczeń mikrobiologicznych) i PCR (dla potrzeb identyfikacji poszczególnych grup mikroorganizmów). Przedstawione zostaną światowe standardy pozwalające na realną ocenę zagrożenia i aktualizację poziomu ryzyka danego obszaru lub instalacji.

### **Review of ecotoxicological solutions and molecular methods for the needs of environmental research and industrial installations**

**G. Piętowski**

*TIGRET SP. Z O. O., ul. Warszawska 27, 02–495 Warszawa  
e-mail: gp@tigret.eu*

*Keywords: ecotoxicity, ecotoxicological risk assessment, biological and molecular methods*

Both in environmental research and in the monitoring of industrial processes, biological tests are used that give a different, broader picture of the quality of the sample than chemical tests. Ecotoxicological tests are used (e.g. for assessing the quality of sewage and process waters), tests for toxicological risk assessment (e.g. for the first assessment of hazards), immunoenzymatic methods (for inexpensive, quick screening tests), molecular methods (for genotoxicity, mutagenicity, hormonal activity), the ATP method (for the assessment of the sum of microbiological impurities) and PCR (for the identification of individual groups of microorganisms). Global standards will be presented that allow for a realistic risk assessment and update of the risk level of a given area or installation.



## Występowanie i charakterystyka mikrodrobin tworzyw sztucznych w narządach ryb słodkowodnych

P. Piskula, A. Astel

*Instytut Biologii i Nauk o Ziemi, Akademia Pomorska w Słupsku, Arciszewskiego 22a, 76–200 Słupsk  
e-mail: paulina.piskula@apsl.edu.pl*

*Słowa kluczowe: mikroplastiki, skrzela, układ pokarmowy, wątroba, Abramis brama, Perca fluviatilis, Pomorze Środkowe*

Zanieczyszczenie mikroplastikiem (MP) jest powszechnym problemem środowiskowym. MP są uwalniane do ekosystemów wodnych i wchodzą w interakcje z fauną i florą (Sangkhom i in., 2022). MP mogą pełnić funkcję wektorów zanieczyszczeń organicznych i nieorganicznych w matrycach biologicznych. Ze względu na hydrofobowy charakter i wysoki stosunek powierzchni do objętości MP ułatwiają gromadzenie zanieczyszczeń, w tym organicznych o potencjalnie najwyższej toksyczności (np. wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA), polichlorowanych bifenyli (PCB), substancji perfluoroalkilowych (PFAS), polibromowanych dieterów (PBD), farmaceutyków, produktów higieny osobistej (Tang, 2021)) oraz nieorganicznych (np. metali (Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb i Zn) (Liu i in., 2022) i metaloidów. Po wchłonięciu mikroplastików przez organizmy następuje uwalnianie zaadsorbowanych ksenobiotyków, a w niektórych przypadkach akumulacja w tkankach i narządach (Chang i in., 2022). Do negatywnych skutków związanych z obecnością MP w organizmach zalicza się obniżenie żywotności komórek, stres oksydacyjny, ograniczoną odpowiedź immunologiczną, stany zapalne, uszkodzenie DNA, zaburzenia metabolizmu, upośledzenie aktywności reprodukcyjnej oraz indukowanie efektów kancerogennych, cytotoksycznych i neurotoksycznych (Kim i in., 2021).

W badaniach oceniano obecność mikrodrobin plastiku w narządach (skrzela, wątroba, przewód pokarmowy) 5 gatunków ryb słodkowodnych poławianych w Jeziorze Gardno oraz rzekach Słupi i Łupawie. Założono, że bioindykacyjna funkcja ichtiofauny pozwoli oszacować stopień zanieczyszczenia danego zbiornika wodnego oraz dokonać oceny ilościowej MP w łańcuchu troficznym. Ze względu na dużą liczebność populacji wybrane do badań gatunki ryb słodkowodnych (leszcz *Abramis brama*, okoń pospolity *Perca fluviatilis*, karaś srebrzysty *Carassius gibelio*, płoć *Rutilus rutilus*, pstrąg tęczowy *Oncorhynchus mykiss*) uznano za najbardziej odpowiednie do monitorowania obecności tworzyw sztucznych w zbiornikach wód powierzchniowych na Pomorzu Środkowym. Wymienione gatunki ryb poprzez swoje walory smakowe mają istotne znaczenie komercyjne i dlatego mogą pełnić ważną rolę w przenoszeniu MP do organizmu człowieka.

MP zidentyfikowano we wszystkich gatunkach ryb. W przeliczeniu na jednego osobnika liczba sztuk wahała się w zakresie od 1 do 12, przy średniej wynoszącej 1,78. Pod względem kształtu dominowały włókna (56%), a następnie fragmenty większych plastikowych elementów (44%). Najbardziej popularną barwą drobin był kolor niebieski (58%), a następnie czerwony (14%), czarny (11%), przezroczysty (6%) i różowy (5%). Wśród włókien dominowały MP o długości w zakresie 1–5 mm (42%), natomiast wśród fragmentów 0,1–0,5 mm (42%). Na podstawie analizy widm FT-IR wykryto polimery zawierające polietylen, polipropylen, kwas poliakrylowy, celofan i polistyren.

## Literatura

1. S. Sangkham, O. Faikhaw, N. Munkong, P. Sakunkoo, C. Arunlertaree, M. Chavali, M. Mousazadeh, A. Tiwari, A review on microplastics and nanoplastics in the environment: Their occurrence, exposure routes, toxic studies, and potential effects on human health, *Mar. Pollut. Bull.* 2022, 181, 113832. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113832>
2. K.H.D. Tang, Interactions of Microplastics With Persistent Organic Pollutants and the Ecotoxicological Effects: A Review. *Trop. Aqua. Soil Pollut.* 2021, 1, 24–34.
3. S. Liu, J.H. Huang, W. Zhang, L.X. Shi, K.X. Yi, H.B. Yu, C.Y. Zhang, S.Z. Li, J.N. Li, Microplastics as a vehicle of heavy metals in aquatic environments: A review of adsorption factors, mechanisms, and biological effects, *J. Environ. Manage.* 2022, 302, A, 113995. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113995>
4. J. Chang, W. Fang, J. Liang, P. Zhang, G. Zhang, H. Zhang, Y. Zhang, Q. Wang, A critical review on interaction of microplastics with organic contaminants in soil and their ecological risks on soil organisms, *Chemosphere*, 306, 2022, 135573. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135573>
5. JH. Kim, YB. Yu, JH. Choi, Toxic effects on bioaccumulation, hematological parameters, oxidative stress, immune responses and neurotoxicity in fish exposed to microplastics: A review, *J. Hazard. Mater.* 413, 2021, 125423. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125423>



## The occurrence and characteristics of microplastics particles in freshwater fish organs

P. Piskula, A. Astel

*Pomeranian University in Słupsk, Institute of Biology and Earth Sciences, Department of Environmental Chemistry, 22b Arciszewskiego, 76–200 Słupsk, Poland  
e-mail: paulina.piskula@apsl.edu.pl*

*Keywords: microplastics, gills, digestive system, liver, Abramis brama, Perca fluviatilis, Central Pomerania*

Pollution with microplastics (MPs) is a common environmental problem. MPs are released into aquatic ecosystems and interact with fauna and flora (Sangkham et al., 2022). MPs can serve as vectors of organic and inorganic contaminants in biological matrices. Due to their hydrophobic nature and high surface-to-volume ratio, MPs facilitate the accumulation of contaminants, including those characterized by potentially high toxicity (e.g. polyaromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), per-fluorinated alkyl substances (PFAS), polybrominated diethers (PBDs), pharmaceuticals, personal care products (Tang, 2021)) and inorganic contaminants (e.g. metals (Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, and Zn) (Liu et al., 2022) and metalloids). When organisms absorb microplastics, xenobiotics can be released, and in some cases, accumulation in tissues and organs occurs (Chang et al., 2022). Negative effects associated with the presence of MPs in organisms include reduced cell viability, oxidative stress, limited immune response, inflammation, DNA damage, metabolic disorders, impaired reproductive activity, and induction of carcinogenic, cytotoxic, and neurotoxic effects (Kim et al., 2021).

In the study, the presence of MPs in the organs (gills, liver, digestive tract) of five species of freshwater fish caught in Lake Gardno and the Slupia and Lupawa rivers was evaluated. It was assumed that the bioindication function of ichthyofauna would allow us to estimate the degree of pollution of a given water reservoir and assess quantitatively the abundance of MPs in the food chain. Due to the high population size of selected freshwater fish species (bream *Abramis brama*, common perch *Perca fluviatilis*, Prussian carp *Carassius gibelio*, roach *Rutilus rutilus*, rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*), they were considered the most appropriate for monitoring the presence of plastics in surface water reservoirs in Central Pomerania. These fish species have significant commercial value due to their taste, and therefore, they can play an important role in transferring MPs to the human body.

Microplastic particles were identified in all fish species. The number of particles per individual fish ranged from 1 to 12, with an average of 1.78. Among the morphological types, fibers (56%) were prevalent among other forms followed by particles (44%). The most dominant color observed was blue (58%) then red (14%), black (11%), transparent (6%), and pink (5%). Among the fibers, and particles the dominant size range was 1–5 mm (42%), and 0.1–0.5 mm (42%) respectively. The FT-IR characterization revealed the presence of polymers predominantly containing polyethylene, polypropylene, polyacrylic acid, cellophane, and polystyrene.

## Literature

1. S. Sangkham, O. Faikhaw, N. Munkong, P. Sakunkoo, C. Arunlertaree, M. Chavali, M. Mousazadeh, A. Tiwari, A review on microplastics and nanoplastics in the environment: Their occurrence, exposure routes, toxic studies, and potential effects on human health, *Mar. Pollut. Bull.* 2022, 181, 113832. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113832>
2. K.H.D. Tang, Interactions of Microplastics With Persistent Organic Pollutants and the Ecotoxicological Effects: A Review. *Trop. Aqua. Soil Pollut.* 2021, 1, 24–34.
3. S. Liu, J.H. Huang, W. Zhang, L.X. Shi, K.X. Yi, H.B. Yu, C.Y. Zhang, S.Z. Li, J.N. Li, Microplastics as a vehicle of heavy metals in aquatic environments: A review of adsorption factors, mechanisms, and biological effects, *J. Environ. Manage.* 2022, 302, A, 113995. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113995>
4. J. Chang, W. Fang, J. Liang, P. Zhang, G. Zhang, H. Zhang, Y. Zhang, Q. Wang, A critical review on interaction of microplastics with organic contaminants in soil and their ecological risks on soil organisms, *Chemosphere*, 306, 2022, 135573. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135573>
5. JH. Kim, YB. Yu, JH. Choi, Toxic effects on bioaccumulation, hematological parameters, oxidative stress, immune responses and neurotoxicity in fish exposed to microplastics: A review, *J. Hazard. Mater.* 413, 2021, 125423. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125423>

## Wpływ biodegradowalnego mikroplastiku na profil fosfolipidowy i wybrane metabolity grzybów mikroskopowych z rodzaju *Trichoderma*

V. Rusetskaya\*, P. Bernat

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej I Biotechnologii Uniwersytetu Łódzkiego (Banacha 12/16, 90–237 Łódź)

\* e-mail: volha.rusetskaya@edu.uni.lodz.pl

Słowa kluczowe: mikroplastik, *Trichoderma*, fosfolipidy

Fosfolipidy stanowią istotny składnik błon biologicznych odgrywając ważną rolę w ich funkcjonowaniu oraz przekazywaniu sygnałów komórkowych. Zmiany w profilu fosfolipidowym mogą wskazywać na oddziaływania różnych związków chemicznych, wpływających na funkcjonowanie błon biologicznych u drobnoustrojów. Wskaźnikiem działania związków toksycznych na mikroorganizmy mogą być także zmiany w profilu wytwarzanych przez nie metabolitów. W ten sposób opisano oddziaływania dla wielu ksenobiotyków, natomiast oddziaływania mikroplastiku na grzyby mikroskopowe zasiedlające glebę są nadal słabo poznane.

Wraz ze zwiększającym się uświadomieniem wpływu zanieczyszczenia środowiska tworzywami sztucznymi wzrasta zainteresowanie alternatywnymi materiałami. Jednym z takich związków jest biodegradowalny plastik PBAT (1,4-butylenu-co-tereftalan 1,4-butylenu), najczęściej używany do produkcji agrowłóknin. Udowodniono że materiał ten może być degradowany przez mikroorganizmy glebowe nawet w ciągu kilka miesięcy, jednak niewiele wiadomo o wpływie na drobnoustroje mikrocząstek PBAT – jednego z etapów rozkładu tworzywa. *Trichoderma sp.* jest ważnym gatunkiem grzybów glebowych należących do PGPF i używanym w rolnictwie jako biologiczny środek ochrony roślin. Metabolity tego drobnoustroju pozytywnie wpływają na wzrost roślin oraz ich odporność na czynniki biotyczne i abiotyczne.

Celem pracy, było określenie wpływu mikroplastiku PBAT obecnego w glebie i w płynnym podłożu hodowlanym na elementy lipidomu i metabolomu grzybów mikroskopowych z rodzaju *Trichoderma*.

Wybrane szczepy *Trichoderma* hodowano w glebie oraz w płynnym podłożu Sabouraud z dodatkiem mikroplastiku w stężeniu od 0,5 do 2% o wielkości cząsteczek do 1000  $\mu\text{m}$ . Biomasa grzybową poddano ekstrakcji z użyciem metanolu. Analizę profilu fosfolipidowego oraz wybranych metabolitów wykonano stosując technikę chromatografii cieczowej I tandemowej spektrometrii mas (LC-MS/MS). Analizę ilościową zidentyfikowanych związków przeprowadzono za pomocą techniki MRM (multiple reaction monitoring).

Uzyskane wyniki świadczą o nieznacznym oddziaływaniu mikrocząstek PBAT obecnych w glebie na błony biologiczne badanych grzybów. Natomiast zaobserwowano istotne zmiany w profilu fosfolipidów szczepów *Trichoderma* w hodowlach płynnych. Wykazano także, że obecność polimeru wywiera wpływ na produkcję T22-azafileonu, metabolitu wtórnego o właściwościach antybiotycznych.

Na podstawie otrzymanych wyników można przypuszczać, że mikrocząstki PBAT oddziałują na badane drobnoustroje i wpływ ten jest zależny od warunków środowiska.

Praca była finansowana z grantu NCN nr UMO 2020/39/B/NZ9/00471.





## **The effect of biodegradable microplastic on the phospholipid profile and selected metabolites of microscopic fungi from the genus *Trichoderma***

**V. Rusetskaya\*, P. Bernat**

*Department of Industrial Microbiology and Biotechnology of the University of Lodz (Banacha 12/16, 90–237 Łódź)*

\* e-mail: [volha.rusetskaya@edu.uni.lodz.pl](mailto:volha.rusetskaya@edu.uni.lodz.pl)

*Keywords: microplastic, Trichoderma, phospholipids*

Phospholipids are an integral component of biological membranes, playing an important role in their function and the transmission of cellular signals. Changes in the phospholipid profile can indicate the impacts of various chemical compounds that affect the functioning of biological membranes in microorganisms. Changes in the profile of the metabolites they produce can also be an indicator of the effects of toxic compounds on microorganisms. The harmful influence of many xenobiotics has been described, however, the impacts of microplastics on soil-inhabiting microfungi are still poorly studied.

With increasing awareness of the impact of plastic pollution, there is a growing interest in alternative materials. One of such substances is biodegradable plastic PBAT (1,4-butylene-co-terephthalate), which is usually used in the production of agro-textiles. It has been proven that this material can be degraded by soil microorganisms even in a few months, but little is known about the effect of PBAT microparticles – one of the stages of plastic degradation. *Trichoderma* sp. is an important species of soil fungi belonging to PGPF and is used in agriculture as a biological crop protection agent. Metabolites of this microorganism positively affect the growth of plants and their resistance to biotic and abiotic factors.

The purpose of this study, was to determine the effect of PBAT microplastic present in the soil and in the liquid culture medium on the elements of the lipidome and metabolome of microscopic fungi of the genus *Trichoderma*.

The selected *Trichoderma* strains were cultured in soil and Sabouraud liquid culture medium with microplastic at concentrations ranging from 0.5 to 2% with particle sizes up to 1000  $\mu\text{m}$ . Fungal biomass was extracted by methanol. The analysis of the phospholipid profile and selected metabolites was performed using liquid chromatography and tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) techniques. Quantitative analysis of the identified compounds was performed using the MRM technique (multiple reaction monitoring).

The results show a low impact of PBAT microparticles present in the soil on the biological membranes of the tested fungi. On the contrary, significant changes were observed in the phospholipid profile of the *Trichoderma* strains in liquid cultures. It was also shown that the presence of the polymer had an effect on the production of T22-azaphilone, a secondary metabolite with antibiotic properties.

Based on the results obtained, it can be assumed that PBAT microparticles have an effect on the microorganisms studied, and this effect depends on the environmental conditions.

*The work was funded by an NCN grant nr UMO 2020/39/B/NZ9/00471.*

## Nawożenie osadami ściekowymi wpływa na strukturę taksonomiczną mikrobiomu i rezystom gleb użytkowanych rolniczo

L. Serwecińska<sup>1\*</sup>, M. Urbaniak<sup>1,2</sup>, A. Font-Nájera<sup>1</sup> E. Mierzejewska<sup>2</sup>, W. Toloczko<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Tylna 3, 90–364, Łódź

<sup>2</sup> Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Instytut Ekologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki ul. Banacha 12/16, 90–237, Łódź

<sup>3</sup> Zakład Dynamiki Środowiska i Gleboznawstwa, Wydział Nauk Geograficznych, Uniwersytet Łódzki, ul. Narutowicza 88, 90–139, Łódź

\* e-mail: l.serwecinska@erce.unesco.lodz.pl

*Słowa kluczowe: osady ściekowe, nawożenie gleb, geny antybiotykooporności, mikrobiom gleby*

Skutkiem intensywnego rozwoju rolnictwa jest postępująca degradacja i wyjaławianie gleb. Ponadto, coraz większym problemem staje się też zagospodarowanie rosnącej ilości ścieków i osadów jako produktu końcowego oczyszczania ścieków. Jedną z zalecanych metod zagospodarowania osadów ściekowych jest wykorzystanie rolnicze, ze względu na obecność w nich znacznych ilości biogenów, z których najważniejsze to węgiel, azot i fosfor. Jednak nawożenie gleb osadem ściekowym obok korzystnych może mieć także skutki niepożądane, bowiem osady zawierają liczne zanieczyszczenia, zarówno natury chemicznej jak i biologicznej. Za zanieczyszczenia uważa się między innymi geny kodujące oporność na antybiotyki (ARG), które dostają się do ekosystemu gleby wraz z nawozami organicznymi, takimi jak osady ściekowe z różnego rodzaju oczyszczalni ścieków. W prezentowanych badaniach podjęto próbę określenia, w jaki sposób gleba wzbogacona osadem ściekowym z jednej z miejskich oczyszczalni ścieków wpływa na liczebność kopii genów kodujących oporność na antybiotyki oraz strukturę taksonomiczną populacji bakterii glebowych. W badaniach metagenomowych zastosowano dwa rodzaje gleb użytkowanych rolniczo, różniących się parametrami fizykochemicznymi, jednak o podobnym składzie mikrobiomu na poziomie typu i rodzaju. Gleby nawożono osadem ściekowym z miejskiej oczyszczalni ścieków w dawce dobranej według polskiej normy, 9 ton na hektar (Dz.U.2015). Po upływie 7 tygodni stwierdzono znaczne zmiany w strukturze taksonomicznej mikrobiomu obydwu gleb wzbogaconych osadami ściekowymi w porównaniu do próbek kontrolnych. W glebie nawożonej zmalała liczebność *Actinobacteria*, *Planctomycetes* i *Chloroflexi*, pełniących ważne funkcje biologiczne w środowisku glebowym. Z kolei stwierdzono znaczny wzrost liczebności Proteobakterii, uważanych za tę grupę mikroorganizmów, wśród której występuje wiele patogenów i potencjalnych patogenów ludzi i zwierząt. W glebie nawożonej wzrosła też znacznie liczebność *Bacteroidetes* będących głównym składnikiem flory jelitowej, a także *Spirochaetes*. Ponadto, wyniki Analizy Głównych Składowych (PCA) wskazują na różnice w zawartości niektórych genów kodujących oporność na leki antybakteryjne, takie jak tetracyklina, wankomycyna, erytromycyna,  $\beta$ -laktamy, sulfonamidy czy trimetoprim w glebie wzbogaconej osadami w porównaniu do próbki gleby kontrolnej.

*Badania finansowane z projektu pt. „Zmiany zespołów mikroorganizmów, oporności na antybiotyki i właściwości fizykochemicznych gleby nawożonej komunalnymi osadami ściekowymi”, Narodowe Centrum Nauki, 2020/39/B/NZ9/01772.*



## Fertilization with sewage sludge influences the taxonomic structure of microbiome and antibiotic resistome in agricultural soils

L. Serwecińska<sup>1\*</sup>, M. Urbaniak<sup>1,2</sup>, A. Font-Nájera<sup>1</sup>, E. Mierzejewska<sup>2</sup>, W. Toloczko<sup>3</sup>

<sup>1</sup> European Regional Centre for Ecohydrology of the Polish Academy of Sciences, 3 Tylna, 90–364 Łódź

<sup>2</sup> UNESCO Chair on Ecohydrology and Applied Ecology, University of Lodz, 12/16 Banacha, 90–237 Łódź

<sup>3</sup> Department of Environmental Dynamics and Soil Sciences, Faculty of Geographical Sciences, University of Lodz, ul. Narutowicza 88, 90–139 Łódź

\* e-mail: l.serwecinska@erce.unesco.lodz.pl

*Keywords: soil fertilization, sewage sludge, antibiotic resistance genes, soil microbiome*

The result of the intensive development of agriculture is the progressive degradation and deterioration of soils. Moreover, the global problem is an increasing amount of wastewater and sewage sludge, as a final product of wastewater treatment. One of the recommended methods of sewage sludge management is agricultural use, due to the presence of significant amounts of nutrients in them, with carbon, nitrogen and phosphorus as most important. However, soil fertilization with sludge, apart from the beneficial ones, may also have unfavourable, because the sludge contains numerous contaminants, both of a chemical and biological nature. Such contaminants include antibiotic resistance genes (ARGs) that enter the soil ecosystem with organic fertilisers, such as sewage sludge from various types of wastewater treatment plants (WWTPs). In the present study, an attempt was made to determine how soil enriched with sewage sludge from one of the municipal sewage treatment plants affects the number of copies of antibiotic resistance genes and the taxonomic structure of soil bacterial communities. Two types of agricultural soils with different physicochemical parameters, but with a similar microbiome composition at the level of phylum and genus, were used for metagenomic studies. The soils were fertilized with sewage sludge from the municipal sewage treatment plant at the loading rate 9 tons per hectare, according to the Polish standard (Dz.U.2015). The significant changes in the taxonomic structure of the soil microbiome were found after 7 weeks of enrichment with sewage sludge, compared to control samples. In the fertilized soil, the number of *Actinobacteria*, *Planctomycetes* and *Chloroflexi*, which perform important biological functions in the soil environment, decreased. In turn, a significant increase in the number of Proteobacteria, considered to be a group of microorganisms among which there are many pathogens and potential pathogens of humans and animals, was found. Additionally, in the fertilized soil, the number of *Bacteroidetes*, which are the main component of the intestinal flora, as well as *Spirochaetes*, increased significantly. Furthermore, the results of the Principal Component Analysis (PCA) indicate variations in the content of some genes encoding resistance to antibacterial drugs, such as tetracycline, vancomycin, erythromycin,  $\beta$ -lactams, sulfonamides or trimethoprim in the soil enriched with sediments compared to the control samples.

*Research funded by The National Science Centre, 2020/39/B/NZ9/01772, “Microbial community, antibiotic resistance and physicochemical changes in soil amended with municipal sewage sludge”.*

## Występowanie wybranych farmaceutyków w ściekach komunalnych i ocena ekotoksykologiczna zagrożenia środowiskowego z zastosowaniem testu Daphtoxkit F™

M. Stec, A. Astel

Instytut Biologii i Nauk o Ziemi, Akademia Pomorska w Słupsku, ul. Arciszewskiego 22a,  
76–200 Słupsk

e-mail: marcin.stec@apsl.edu.pl

Słowa kluczowe: farmaceutyki, oczyszczalnia ścieków, ekotoksykologia, *Daphnia magna*

W wyniku działalności człowieka do środowiska wodnego uwalniane są różnorodne związki organiczne, z których część nie podlega monitoringowi. Jedną z klas tego typu zanieczyszczeń stanowią farmaceutyki wykorzystywane w leczeniu chorób ludzi i zwierząt.

Ze względu na powszechność zastosowania na szczególną uwagę zasługują substancje przeciwbólowe i przeciwgorączkowe (ibuprofen, paracetamol, diklofenak, naproksen, ketoprofen, kwas acetylosalicylowy) oraz syntetyczne hormony (17-alfa-etynyloestradiol). Powszechne zastosowanie farmaceutyków w medycynie i weterynarii przyczyniło się do ich występowania w różnych matricach środowiskowych (Gerrity i Snyder, 2012; Arnold i inni, 2014). Farmaceutyki są uwalniane do środowiska wodnego głównie poprzez odprowadzanie niedostatecznie oczyszczonych ścieków komunalnych ze szpitali, lecznic weterynaryjnych i gospodarstw domowych (Kołęcka i inni, 2019). Badania naukowe potwierdzają, że część powszechnie stosowanych farmaceutyków nie jest w pełni usuwana w procesie biologicznego oczyszczania ścieków np. diklofenak (<40%) (Kołęcka i inni, 2019), ketoprofen (8–53%) (Tauxe-Wuerche i inni, 2005) oraz ibuprofen (53–79%) (Tauxe-Wuerche i inni, 2005). Niska efektywność usuwania farmaceutyków ze strumienia ścieków w konwencjonalnych oczyszczalniach wynika z niskiego stopnia przystosowania procesu oczyszczania metodą osadu czynnego do eliminacji tego typu zanieczyszczeń (Bijlsma i inni, 2021). Z kolei brak przepisów, które określałyby dopuszczalne wartości stężeń farmaceutyków w ściekach często skutkuje odprowadzaniem ścieków o dowolnym ładunku tego typu ksenobiotyków (Rosińska, 2022).

Uwalnianie farmaceutyków do środowiska stwarza realne zagrożenie dla ekosystemów wodnych. Ze względu na inicjowanie aktywności biologicznej w niskich stężeniach, farmaceutyki mogą wywierać niekorzystny wpływ na organizmy wodne powodując modyfikację zachowania, zaburzenia neurologiczne, metaboliczne, funkcji rozrodczych oraz anomalie rozwojowe (Miettinen i Khan, 2021).

Badanie pilotażowe miało na celu ocenę występowania i określenie ładunku powszechnie stosowanych farmaceutyków (paracetamol, naproksen, ketoprofen, diklofenak, kwas salicylowy, kwas acetylosalicylowy, ibuprofen, 17-alfa-etynyloestradiol) w ściekach surowych i oczyszczonych. Próbkę pobrano z oczyszczalni ścieków w Słupsku w 2021 roku w odstępach miesięcznych od maja do września. Niezbędnym uzupełnieniem oznaczeń ilościowych była ocena potencjalnego zagrożenia środowiskowego, którą przeprowadzono z wykorzystaniem skorupiaków słodkowodnych *Daphnia magna* (test Daphtoxkit F™). W próbkach ścieków surowych i oczyszczonych stwierdzono siedem z ośmiu objętych badaniami farmaceutyków, których stężenie wynosiło od 0.10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  do 32.48  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  w ściekach surowych oraz od <LOD do 2.21  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  w ściekach oczyszczonych. W teście Daphtoxkit F™, 50% efekt toksyczny po 48 godzinach narażenia na badane farmaceutyki zaobserwowano w zakresie stężeń od 0.17 do 72.50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Najbardziej toksyczny był 17-alfa-etynyloestradiol.

## Literatura

1. Arnold, K.E., Brown, A.R., Ankley, G.T., Sumpter, J.P. (2014). Medicating the environment: assessing risks of pharmaceuticals to wildlife and ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1656), 20130569–20130569.
2. Bijlsma, L., Pitarch, E., Fonseca, E., Ibáñez, M., Botero, A. M., Claros, J., Pastor, L., Hernández, F. (2021). Investigation of pharmaceuticals in a conventional wastewater treatment plant: Removal efficiency, seasonal variation and impact of a nearby hospital. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105548.
3. Gerrity, D., Benotti, M.J., Reckhow, D.J., Snyder, S.A. (2011). Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in drinking water. *Biophysico-Chemical Processes of Anthropogenic Organic Compounds in Environmental Systems* John Wiley & Sons, Inc., 233–250.
4. KołECKA, K., Gajewska, M., Stepnowski, P., Caban, M. (2019). Spatial distribution of pharmaceuticals in conventional wastewater treatment plant with Sludge Treatment Reed Beds technology. *Science of The Total Environment*, 647, 149–157.
5. Miettinen, M, Khan, S.A. (2021). Pharmaceutical pollution: A weakly regulated global environmental risk. *The Review of European, Comparative & International Environmental Law*, 31(1), 75–88.
6. Rosińska A. *Emerging pollutants wyzwaniem dla gospodarki*. Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, 2022.
7. Tauxe-Wuerche, A., Alencastro, L.F.D., Grandjean, D., Tarradellas, J. (2005). Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Research*, 39 (9), 1761–1772.

## Occurrence of selected pharmaceuticals in municipal wastewater and ecotoxicological assessment of environmental risk using the Daphtoxkit F<sup>TM</sup> test

M. Stec, A. Astel

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, 22 a Arciszewskiego Str., 76–200 Słupsk*

*e-mail: marcin.stec@apsl.edu.pl*

*Keywords: pharmaceuticals, wastewater treatment plants, ecotoxicology, Daphnia magna*

As a result of human activity, a variety of organic compounds are released into the aquatic environment. Part of them is not subject to monitoring. One class of such pollutants is pharmaceuticals used in the treatment of human and animal diseases.

Due to their availability, painkillers, antipyretics and antipyretics (ibuprofen, paracetamol, diclofenac, naproxen, ketoprofen, acetylsalicylic acid) and synthetic hormonal substances (17- $\alpha$ -ethinylestradiol) deserve special attention. The widespread use of pharmaceuticals in medicine and veterinary medicine has contributed to their occurrence in various environmental matrices (Gerrity and Snyder, 2012; Arnold et al., 2014). Pharmaceuticals are released into the aquatic environment mainly by discharging insufficiently treated municipal wastewater from hospitals, veterinary clinics, and households (Kolecka et al., 2019). Scientific studies confirm that some commonly used pharmaceuticals are not fully removed in biological wastewater treatment plants, e.g. diclofenac (<40%) (Kolecka et al., 2019), ketoprofen (8–53%) (Tauxe-Wuerche et al., 2005) and ibuprofen (53–79%) (Tauxe-Wuerche et al., 2005). The low efficiency of removing pharmaceuticals from the wastewater stream in conventional wastewater treatment plants (WWTPs) is due to the poor adaptation of the activated sludge treatment process to eliminate this pollutant (Bijlsma et al., 2021). In turn, the lack of regulations that specify the permissible concentrations of pharmaceuticals in wastewater often results in the discharge of wastewater with arbitrary loads of such xenobiotics (Rosińska, 2022).

The release of pharmaceuticals into the environment poses a real threat to aquatic ecosystems. Due to the initiation of biological activity at low concentrations, pharmaceuticals can have adverse effects on aquatic organisms causing behavioral modification, neurological, metabolic, reproductive function, and developmental abnormalities (Miettinen and Khan, 2021).

The pilot study aimed to assess the occurrence and determine the load of commonly used pharmaceuticals (paracetamol, naproxen, ketoprofen, diclofenac, salicylic acid, acetylsalicylic acid, ibuprofen, 17- $\alpha$ -ethinylestradiol) in raw and treated wastewater. Samples were taken from the WWTPs in the Słupsk in 2021 at monthly intervals from May to September. Qualitative analysis was coupled with assessment of potential environmental risk, which was carried out using the freshwater crustacean *Daphnia magna* (Daphtoxkit F<sup>TM</sup> test). Seven of eight pharmaceuticals were found in raw and treated wastewater samples, with concentrations ranging from 0.10 to 32.48  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  in raw wastewater and <LOD to 2.21  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  in treated wastewater. In Daphtoxkit F<sup>TM</sup> test, a 50% toxic effect after 48 hours of exposure to the tested pharmaceuticals was observed in the concentration range from 0.17 to 72.50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . 17- $\alpha$ -ethinylestradiol was the most toxic.

## References

1. Arnold, K.E., Brown, A.R., Ankley, G.T., Sumpter, J.P. (2014). Medicating the environment: assessing risks of pharmaceuticals to wildlife and ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1656), 20130569–20130569.
2. Bijlsma, L., Pitarch, E., Fonseca, E., Ibáñez, M., Botero, A. M., Claros, J., Pastor, L., Hernández, F. (2021). Investigation of pharmaceuticals in a conventional wastewater treatment plant: Removal efficiency, seasonal variation and impact of a nearby hospital. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105548.
3. Gerrity, D., Benotti, M.J., Reckhow, D.J., Snyder, S.A. (2011). Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in drinking water. *Biophysico-Chemical Processes of Anthropogenic Organic Compounds in Environmental Systems* John Wiley & Sons, Inc., 233–250.
4. KołECKA, K., Gajewska, M., Stepnowski, P., Caban, M. (2019). Spatial distribution of pharmaceuticals in conventional wastewater treatment plant with Sludge Treatment Reed Beds technology. *Science of The Total Environment*, 647, 149–157.
5. Miettinen, M, Khan, S.A. (2021). Pharmaceutical pollution: A weakly regulated global environmental risk. *The Review of European, Comparative & International Environmental Law*, 31(1), 75–88 .
6. Rosińska A. Emerging pollutants a challenge for the economy. *Częstochowa University of Technology*, 2022. (in polish)
7. Tauxe-Wuerche, A., Alencastro, L.F.D., Grandjean, D., Tarradellas, J. (2005). Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Research*, 39 (9), 1761–1772.



## Zastosowanie biotestów do oceny ekotoksyczności wód narażonych na zasolenie

**S. Szklarek<sup>1</sup>, A. Górecka<sup>2</sup>, R. Witczak<sup>3</sup>, A. Drobniewska<sup>4</sup>, G. Nałęcz-Jawecki<sup>4</sup>,  
J. Mankiewicz-Boczek<sup>1,3</sup>, T. Jurczak<sup>3</sup>, H. Mazur-Marzec<sup>5</sup>, A. Wojtal-Frankiewicz<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polska Akademia Nauk, ul. Tylna 3, 90–364 Łódź

<sup>2</sup> Uniwersytet Łódzki, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, 90–237 Łódź, ul. Banacha 12/16

<sup>3</sup> Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, 90–237 Łódź, ul. Banacha 12/16

<sup>4</sup> Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Zakład Toksykologii i Bromatologii, ul. Banacha 1, 02–097 Warszawa

<sup>5</sup> Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii, Zakład Biotechnologii Morskiej, ul. Jana Bażyńskiego 8, 80–309 Gdańsk

e-mail: s.szklarek@erce.unesco.lodz.pl

*Słowa kluczowe: bioindykatory, ekotoksyczność, katastrofa na Odrze, sól drogowa, zasolenie wód słodkich*

Rockström i współautorzy (2009) wyznaczyli dziewięć granic planetarnych określających progi dla bezpiecznego funkcjonowania człowieka w świecie jakim znamy. Część z tych granic związana jest z zasobami wód słodkich: zmiana klimatu, utrata bioróżnorodności, cykle biochemiczne azotu i fosforu, użytkowanie wód słodkich i chemiczne zanieczyszczenie. Co prawda zasolenie nie jest wymieniane bezpośrednio jako jedna z tych granic, ale pośrednio jest związane z wyznaczonymi granicami. Globalne ocieplenie wpływa na obieg wody, a w konsekwencji na częstotliwość i intensywność susz, zwiększając w ten sposób zasolenie rzek. Zasolenie wód słodkich jest wskazywane jako jeden z dwunastu czynników odpowiedzialnych za zmniejszenie bioróżnorodności słodkowodnych ekosystemów. Zasolenie zwiększa też stężenia azotu i fosforu w wodach powierzchniowych poprzez ograniczenie procesów samooczyszczania i aktywację zanieczyszczeń zgromadzonych w zlewni (wymywanie) i w osadach (uwalnianie). Katastrofa ekologiczna na Odrze w 2022 roku pokazała jeden ze skutków zasolenia śródlądowych wód słodkich.

Zasolenie wód słodkich powodowane jest m.in. przez zimowe stosowanie soli drogowej, działalność górniczą i przemysłową, nawozy oraz środki ochrony roślin stosowane w rolnictwie. W wystąpieniu zaprezentujemy wyniki trzyletniego projektu badawczego skupionego na tematach: 1) wpływ soli drogowej na sukces wylęgu zooplanktonu z jaj przetrwalnikowych, 2) toksyczność „ekologicznych” zamienników najczęściej stosowanej soli drogowej NaCl, 3) zależność między stężeniem chlorków i dynamiką zagęszczenia zooplanktonu w zbiornikach miejskich. Dodatkowo, w związku z katastrofą na Odrze, w której zasolenie odegrało istotną rolę, przeanalizowano: 4) możliwość zastosowania biotestów w ocenie ryzyka wynikającego z zasolenia dla ekosystemów słodkowodnych w zlewni Kłodnicy, 5) reakcję ekosystemu na zakwit *Prymnezium pavrum* w oparciu o baterię biotestów.



*Badania współfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (projekt nr 2018/28/C/NZ8/00235):  
„Wpływ zimowego zanieczyszczenia solą drogową na sukces wylęgu zooplanktonu z jaj prze-  
trwałnikowych.”*

*Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F.S., Lambin, E.F., Lenton, T.M.,  
Scheffer, M., Folke, C., Schellnhuber, H.J., Nykvist, B., de Wit, C.A., Hughes, T., van der  
Leeuw, S., Rodhe, H., Sörlin, S., Snyder, P.K., Costanza, R., Svedin, U., Falkenmark, M.,  
Karlberg, L., Corell, R.W., Fabry, V.J., Hansen, J., Walker, B., Liverman, D., Richardson, K.,  
Crutzen, P., Foley, J.A., 2009. A safe operating space for humanity. *Nature* 461, 472–475.  
<https://doi.org/10.1038/461472a>*

## Biotest applied to ecotoxicity assessment of freshwater salinization

**S. Szklarek<sup>1</sup>, A. Górecka<sup>2</sup>, R. Witczak<sup>3</sup>, A. Drobniewska<sup>4</sup>, G. Nałęcz-Jawecki<sup>4</sup>,  
J. Mankiewicz-Boczek<sup>1,3</sup>, T. Jurczak<sup>3</sup>, H. Mazur-Marzec<sup>5</sup>, A. Wojtal-Frankiewicz<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> European Regional Centre for Ecohydrology, Polish Academy of Sciences, Tylna 3, 90–364 Lodz, Poland

<sup>2</sup> University of Lodz, Doctoral School of Exact and Natural Sciences, 90–237 Lodz, Banacha 12/16, Poland

<sup>3</sup> University of Lodz, Faculty of Biology and Environmental Protection, UNESCO Chair on Ecohydrology and Applied Ecology, 90–237 Lodz, Banacha 12/16, Poland

<sup>4</sup> Department of Toxicology and Food Sciences, Medical University of Warsaw, Banacha 1 str., 02–097 Warsaw, Poland

<sup>5</sup> University of Gdansk, Faculty of Oceanography and Geography, Division of Marine Biotechnology, Jana Bażyńskiego 8, 80–309 Gdansk, Poland  
e-mail: s.szklarek@erce.unesco.lodz.pl

*Keywords: bioindicators, ecotoxicity, freshwater salinization syndrome, Oder catastrophe, road salt*

Rockström et al. (2009) defined nine planetary boundaries within which humanity can operate safely, some of which influence the functioning of the freshwater ecosystems: climate change, biological diversity loss, biogeochemical nitrogen (N) and phosphorus (P) cycle, global freshwater use and chemical pollution. Although salinization was not mentioned as a planetary boundary per se, it is nonetheless related. Global warming impacts on the water cycle, resulting in more intense droughts in some regions, and hence increased river salinity. Freshwater salinisation is an emerging threat for freshwater biodiversity. Salinization increases N and P concentrations in waters by releasing them from sediments and decreasing the self-purification process. Oder river catastrophe in 2022, showed one of the freshwater salinization consequences.

Salinization of freshwater sources are: road salt application, mining and industrial activity, agriculture fertilizers and pesticides. We present the results of three years project focused on: 1) road salt impact on hatching success of zooplankton species, 2) toxicity of “eco-friendly” alternatives of commonly used NaCl road salt, 3) the identification of a relationship between zooplankton community density and chloride concentration. Additionally, according to Oder catastrophe in which salinity plays an important role, it was investigated: 4) used the battery of biotest to determine the salinisation impact on freshwater ecosystems in Kłodnica catchment, 5) ecosystems reaction on *Prymnesium parvum* bloom assessed by biotest battery.

*Study was supported by grant No. 2018/28/C/NZ8/00235, “Impact of road salt pollution in winter on zooplankton hatching success from resting eggs.” Funded by the National Science Center (Poland).*

Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F.S., Lambin, E.F., Lenton, T.M., Scheffer, M., Folke, C., Schellnhuber, H.J., Nykvist, B., de Wit, C.A., Hughes, T., van der Leeuw, S., Rodhe, H., Sörlin, S., Snyder, P.K., Costanza, R., Svedin, U., Falkenmark, M., Karlberg, L., Corell, R.W., Fabry, V.J., Hansen, J., Walker, B., Liverman, D., Richardson, K., Crutzen, P., Foley, J.A., 2009. A safe operating space for humanity. *Nature* 461, 472–475. <https://doi.org/10.1038/461472a>



## Potencjalne zagrożenia zdrowotne wynikające ze stosowania w pomieszczeniach użyteczności publicznej wyłącznie wentylacji mechanicznej

A. Trusz<sup>1</sup>, S. Szczęśniak<sup>2</sup>, J. Gorlach, K. Piekarska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Inżynierii Ochrony Środowiska Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

<sup>2</sup> Katedra Klimatyzacji, Ogrzewnictwa, Gazownictwa i Ochrony Powietrza Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław  
e-mail: agnieszka.trusz@pwr.edu.pl

*Słowa kluczowe: wewnętrzna recyrkulacja powietrza pomieszczeń, jakość sanitarna powietrza wewnętrznego, ogólna liczba bakterii mezofilnych i grzybów, gronkowce*

Ostatnie lata pod znakiem pandemii koronawirusa szczególnie zwróciły uwagę na jakość mikrobiologiczną powietrza wewnątrz pomieszczeń użyteczności publicznej. Aspekt ten, mimo licznych doniesień literaturowych, wskazujących na poważne zagrożenia związane z wdychanym powietrzem w dalszym ciągu nie jest unormowany prawnie. Brak norm, czy wytycznych, a jedynie zalecenia różnych badaczy co do wartości dopuszczalnych drobnoustrojów w powietrzu są niewystarczające aby móc egzekwować poprawę jego jakości mikrobiologicznej eliminując tym samym potencjalne zagrożenia zdrowia osób korzystających z pomieszczeń. Dodatkowo stosowanie coraz powszechniej systemów wentylacyjnych czy klimatyzacyjnych może wpływać negatywnie na jakość sanitarną powietrza wewnętrznego.

Badania przeprowadzono w dwóch obiektach użyteczności publicznej wentylowanych jedynie przy zastosowaniu wentylacji mechanicznej, w wariantach bez recyrkulacji wewnętrznej powietrza. Pobierano próbki powietrza nawiewnego (powietrza zewnętrznego) do pomieszczeń za pierwszym i drugim filtrem centrali oraz próbki powietrza wywiewnego z pomieszczenia za pierwszym filtrem. Tłem były próbki powietrza zewnętrznego. Wykorzystano dwie metody poboru próbek powietrza: zderzeniową i sedymentacyjną do określenia obecności ogólnej liczby bakterii mezofilnych (OLB, podłoże agar odżywczy), liczby gronkowców (podłoże Baird Parker) i ogólnej liczby grzybów (OLG, podłoża: Malt-Extract, Czapek-Dox, Sabourauda).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż powietrze zewnętrzne charakteryzowało się brakiem obecności OLB mezofilnych w próbkach pobranych metodą zderzeniową i brakiem komórek gronkowców niezależnie od zastosowanej metody poboru. Z kolei przy zastosowaniu metody sedymentacyjnej OLB mezofilnych wynosiła 157 JTK/m<sup>3</sup>. OLG wyrosła na zastosowanych w badaniach podłożach, pochodząca z próbek powietrza pobranych przy pomocy dwóch zastosowanych metod, charakteryzowała się podobnymi wartościami. Największą liczbę grzybów, wynoszącą 4630 i 4089 JTK/m<sup>3</sup> odpowiednio dla metody zderzeniowej i sedymentacyjnej, odnotowano na podłożu Czapek-Dox. Na podłożu Sabourauda odpowiednio wyrosło 2680 i 3303 JTK/m<sup>3</sup>. Po pierwszym filtrze nastąpiła znacząca redukcja OLG w próbkach powietrza, wynosząca od 6 do 9 razy. Wzrosła natomiast OLB mezofilnych z 0 do 20 i 30 JTK/m<sup>3</sup> odpowiednio dla centrali obsługującej pomieszczenie pierwsze i drugie. próbki powietrza pobrane za drugim filtrem charakteryzowały się całkowitą redukcją OLB mezofilnych i nieznacznym spadkiem OLG. Z kolei w powietrzu badanych pomieszczeń stwierdzono obecność OLB mezofilnych, wśród których mogą występować zarówno bakterie chorobotwórcze jak i potencjalnie chorobotwórcze, na poziomie 320 i 170 JTK/m<sup>3</sup> oraz gronkowców na poziomie

80 i 50 JTK/m<sup>3</sup>, odpowiednio dla pomieszczenia pierwszego i drugiego. OLG była w próbkach pobranych w obu pomieszczeniach na podobnym poziomie co w powietrzu nawiewnym. W powietrzu wywiewnym z drugiego pomieszczenia zaobserwowano brak OLB mezofilnych, gronkowców i OLG wyrastających na podłożu Malt-Extract. W powietrzu pierwszego pomieszczenia nie zaobserwowano jedynie obecności gronkowców. Dla pozostałych badanych drobno-ustrojów odnotowano redukcję ich ilości od 7 do 32 razy, co stanowiło ich stężenie na poziomie 10–50 JTK/m<sup>3</sup>.

Przeprowadzone badania pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków:

- Przy prawidłowo eksploatowanej centrali wentylacyjnej dwustopniowa filtracja powietrza zewnętrznego nawiewnego do pomieszczeń umożliwia znaczącą redukcję zarodników i strzępków grzybów.
- Głównym źródłem bakterii chorobotwórczych, w tym gronkowców, w pomieszczeniach są ludzie.
- Wentylacja mechaniczna, w wariantcie bez recyrkulacji wewnętrznej, nie zabezpiecza ludzi korzystających z pomieszczeń przed bakteriami chorobotwórczymi.

*Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2021/41/B/ST8/03402 pt. „Wpływ skroplin w instalacjach wentylacyjnych na wtórne zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza” finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.*

## Potential health risks resulting from using only mechanical ventilation in public spaces

A. Trusz<sup>1</sup>, S. Szcześniak<sup>2</sup>, J. Gorlach<sup>1</sup>, K. Piekarska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Environmental Protection Engineering, Faculty of Environmental Engineering, Wrocław University of Science and Technology, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, Wrocław 50–370, Poland

<sup>2</sup> Department of Air-Conditioning, Heating, Gas Engineering and Air Protection Faculty of Environmental Engineering, Wrocław University of Science and Technology, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, Wrocław 50–370, Poland  
e-mail: agnieszka.trusz@pwr.edu.pl

*Keywords: indoor air recirculation, sanitary quality of indoor air, total number of mesophilic bacteria and fungi, Staphylococci*

Recently, under the sign of the coronavirus pandemic, attention has been paid to the microbiological quality of air inside public utility rooms. This aspect, despite numerous literature reports indicating serious risks associated with inhaled air, is still not regulated by law. There are no standards or guidelines, and only indications of limit values are insufficient to be able to enforce the improvement of the microbiological quality of the air, thus eliminating potential health risks for people using the premises. In addition, the increasingly common use of ventilation or air-conditioning systems may negatively affect (and there are also confirmations of this) on the sanitary quality of indoor air.

The tests were carried out in two public utility buildings ventilated only with the use of mechanical ventilation, in the variant without internal air recirculation. Samples were taken for the air entering (outside air) the rooms after the first and second filters, in the room and for the extract air the room after the first filter. The background was the outside air. Impact and sedimentation methods were used to determine the total number of mesophilic bacteria (nutrient agar medium) and *Staphylococci* (Baird Parker medium) and the total number of fungi (Malt-Extract, Czapek-Dox and Sabouraud medium).

On the basis of the tests carried out, it was observed that the outside air was characterized by a zero value of the total number of mesophilic bacteria when collected by the impact method and *Staphylococci*, regardless of the method used, while when using the sedimentation method, this value was 157 CFU/m<sup>3</sup>. The total number of fungi for the two methods of air sampling showed similar results for the same mediums, with the highest values for the Czapek-Dox medium (4630 and 4089 CFU/m<sup>3</sup> for the impact and sedimentation method) and the lowest for the Sabouraud medium (2680 and 3303 CFU/m<sup>3</sup>, respectively).

After the first filter, there was a significant reduction in the total number of fungi by 6 to 9 times. On the other hand, the total number of bacteria increased from 0 to 20 and 30 CFU/m<sup>3</sup> after the first filter for the air handling unit servicing the first and second room, respectively. After the second-stage air filtration, there was a complete reduction in the total number of bacteria and a slight reduction in the total number of fungi. On the other hand, the air in the tested rooms was characterized by a total number of mesophilic bacteria, including both pathogenic and potentially pathogenic bacteria, in the amount of 320 and 170 CFU/m<sup>3</sup>, and *Staphylococci* in the amount of 80 and 50 CFU/m<sup>3</sup>, respectively for the first and second room. The concentration of fungi was, in both rooms, at a similar level as in the entering

air. Exhaust air showed a reduction of microorganisms to 0 CFU/m<sup>3</sup> for room two for total bacteria, *Staphylococci* and total number of fungi for Malt-Extract medium. For room 1, only the concentration of *Staphylococci* was zero. In other cases, the reduction of microorganisms was from 7 to 32 times, giving a concentration of microorganisms at the level of 10–50 CFU/m<sup>3</sup>.

The conducted research allowed to draw the following conclusions:

- With a properly operated air handling unit, two-stage filtration of the outside air entering the rooms enables a significant reduction of fungal spores and hyphae.
- The main source of pathogenic bacteria, including *Staphylococci*, indoors is people.
- Mechanical ventilation, in the variant without internal recirculation, does not protect people using the rooms against pathogenic bacteria, including *Staphylococci*.

*The work was supported by the National Science Centre, Poland, under research project entitled: “Impact of condensate in air-conditioning systems on secondary microbiological pollution of indoor air”, no 2021/41/B/ST8/03402.*

## Rozprzestrzenianie się bakterii *E. coli* w wodach Zatoki Gdańskiej

L. Wolska, B. Rybak

Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z IMMiT, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębowa 23A, 80–204 Gdańsk  
e-mail: lidia.wolska@gumed.edu.pl

Słowa kluczowe: *E. coli*, zanieczyszczenia mikrobiologiczne, Zatoka Gdańska

Zatoka Gdańska jest rejonem specyficznym, graniczącym z dużą aglomeracją miejską, ujściem rzeki Wisły oraz wieloma lokalnymi potokami. Ze względu na walory turystyczne tego miejsca i znaczenie gospodarcze, czystość mikrobiologiczna plaż i wód kąpieliskowych ma ogromne znaczenie dla zdrowia turystów i mieszkańców. Rejon ten charakteryzuje się wieloma źródłami dopływu zanieczyszczeń mikrobiologicznych (zrzuty ścieków oczyszczonych, zrzut z sieci wód burzowych, dopływy potoków, dopływ rzeki Wisły, możliwe zrzuty wód balastowych statków na redzie portów trójmiejskich). Niektóre mają charakter stały (ciągły dopływ zanieczyszczeń), inne czasowy. Przeżywalność bakterii, w tym *E. coli*, powiązana jest z warunkami środowiskowymi, do których należą między innymi: temperatura wody, zasolenie i nasłonecznienie [1].

Występowanie podwyższonej liczebności *E. coli* i bakterii z grupy coli stanowi zagrożenie dla zdrowia osób wypoczywających na plażach nad Zatoką Gdańską. Zanieczyszczenia te mogą prowadzić do zatruc pokarmowych oraz mogą być przyczyną zakażeń układu moczowo-płciowego, a także zakażeń ran w szczególności u osób z nabytą lub wrodzoną obniżoną odpornością.

Wzrost miana bakterii z grupy coli i *E. coli* w wodach zatoki w związku z napływem dodatkowych zanieczyszczeń spowodowanych niekontrolowanym, awaryjnym odprowadzaniem ścieków w tym ścieków nieoczyszczonych do rzek czy wód Zatoki może prowadzić do wzrostu ilości bakterii opornych na antybiotyki, stanowiących dodatkowe zagrożenia dla życia i zdrowia osób wrażliwych / predysponowanych.

W ramach badań przeanalizowano wyniki oceny mikrobiologicznej plaż (badania monitoringowe wykonywane przez Stacje Sanitarno-Epidemiologiczne) oraz wyniki oceny mikrobiologicznej wód kąpieliskowych w okresie intensywnych zrzutów ścieków z warszawskiej sieci kanalizacyjnej. W rozważaniach dotyczących rozprzestrzeniania się *E. coli* ciekawym zaobserwowanym zjawiskiem było zanieczyszczenie wód kąpieliskowych w czasie zjawiska „cofki” (wiatry z kierunku północnego).

W trakcie wykonanych badań mikrobiologicznych w latach 2019–2020 miana bakterii z grupy coli i bakterii *E. coli* podczas wiatrów północno zachodnich zaobserwowano 3-krotny wzrost miana bakterii kałowych w wodach zatoki oraz w wodach Wisły w obszarze tzw. „przekopu Wisły” w rejonie Kiezmarku i Świbna.

Obserwację tę można wykorzystywać do przewidywania / prognozowania wzrostu zanieczyszczenia bakteriami kałowymi na kąpieliskach w rejonie Zatoki Gdańskiej na podstawie danych meteorologicznych kierunku i siły wiatru.

## **Literatura**

- [1] Wolska, L., Kowalewski, M., Potrykus, M., Redko, V., Rybak, B., Difficulties in the Modeling of E. coli Spreading from Various Sources in a Coastal Marine Area, *Molecules* 27, 2022.

## **Podziękowania**

*Badania naukowe zostały sfinansowane ze środków Ministerstwa Edukacji i Nauki w ramach realizacji projektu nr ST-02-0103/07/322.*



## The spread of *E. coli* bacteria in the waters of the Gulf of Gdańsk

L. Wolska, B. Rybak

*Department of Environmental Toxicology, Faculty of Health Sciences with IMTM, Medical University of Gdansk, Dębowa 23A, 80–204 Gdańsk, Poland  
e-mail: lidia.wolska@gumed.edu.pl*

*Keywords: E. coli, microbiological contamination, the Gulf of Gdańsk*

The Gulf of Gdansk is a specific area bordering on a large urban agglomeration, the mouth of the Vistula River and many local streams. Due to the tourist values of this place and economic importance, the microbiological contamination of beaches and bathing waters is of great importance for the health of tourists and residents. This region is characterized by many sources of microbiological contamination (discharges of treated wastewater, discharges from the stormwater network, stream tributaries, the Vistula River tributary, possible discharges of ship ballast water in the roadsteads of the Tri-City ports). Some are permanent (continuous influx of pollutants), others temporary. Survival of bacteria, including *E. coli*, is related to environmental conditions, which include, among others: water temperature, salinity and insolation [1].

The presence of an increased number of *E. coli* and coli bacteria poses a threat to the health of people resting on the beaches of the Gulf of Gdansk. These contaminants can lead to food poisoning and can cause infections of the genitourinary system, as well as wound infections, especially in people with acquired or congenitally reduced immunity.

An increase in the titre of coliform bacteria and *E. coli* in the waters of the Gulf due to the influx of additional pollutants caused by uncontrolled, emergency discharge of sewage, including untreated sewage into rivers or the Gulf waters, may lead to an increase in the number of bacteria resistant to antibiotics, posing additional threats to life and health of vulnerable / predisposed persons.

During research the results of the microbiological assessment of beaches (monitoring tests carried out by Sanitary and Epidemiological Stations) and the results of the microbiological assessment of bathing waters during the period of intensive sewage discharges from the Warsaw sewage system were analyzed. In the considerations concerning the spread of *E. coli*, an interesting phenomenon was observed due to the bathing waters pollution during the phenomenon of “backwater” (winds from the north-west).

During the microbiological tests carried out in 2019–2020, the titer of coliform bacteria and *E. coli* bacteria during north-west winds, a 3-fold increase in the titre of fecal bacteria was observed in the waters of the bay and in the waters of the Vistula in the area of the so-called “cross-cut of the Vistula” in the area of Kiezmark and Świbno.

This observation can be used to predict/forecast an increase in faecal contamination at bathing areas in the Gdańsk Gulf based on meteorological data on wind direction and strength.

## References

- [1] Wolska, L., Kowalewski, M., Potrykus, M., Redko, V., Rybak, B., Difficulties in the Modeling of E. coli Spreading from Various Sources in a Coastal Marine Area, *Molecules* 27, 2022

## Acknowledgments

*This work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education in Poland from the project no. ST-02-0103/07/322.*



## Ocena toksycznego wpływu kwasu perfluorooktanowego (PFOA) na morfologiczne i biochemiczne markery stresu środowiskowego wierzby wiciowej (*Salix viminalis* L.) uprawianej w hydroponice

A. Wyrwicka-Drewniak<sup>1</sup>, M. Zacchini<sup>2</sup>, F. Pietrini<sup>2</sup>, D. Pyjecka, A. Gryl

<sup>1</sup> Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

<sup>2</sup> Research Institute on Terrestrial Ecosystems (IRET), National Research Council of Italy (CNR), Via Salaria km 29.300, Monterotondo Scalo, 00015 Roma, Italy  
e-mail: anna.wyrwicka@biol.uni.lodz.pl

*Słowa kluczowe:* PFAS, związki perfluoroalkilowe, PFOA, kwas perfluorooktanowy, fitotoksyczność, wierzba wiciowa, *Salix viminalis*, stres środowiskowy, antyoksydanty, ekotoksykologia roślin, fitoremediacja

Substancje per- i polifluoroalkilowe (PFAS; *perfluoroalkyl substances*) to grupa heterogenicznych związków o właściwościach amfipatycznych i wyjątkowej odporności na degradację chemiczną i termiczną. Unikalne właściwości związków PFAS były wykorzystywane przez prawie 60 lat i w dużej mierze przyczyniły się do ich szerokiego zastosowania w przemyśle oraz do produkcji przedmiotów codziennego użytku. Aktualnie, występowanie PFAS w środowisku jest postrzegane z dużym zaniepokojeniem, ponieważ ze względu na wszechobecność tych substancji, wyjątkową trwałość, możliwość przenoszenia na duże odległości oraz potencjał do bioakumulacji, związki te stanowią poważny problem zarówno dla dzikiej fauny i flory, jak i dla zdrowia człowieka.

Celem prowadzonych badań było scharakteryzowanie toksycznego oddziaływania kwasu perfluorooktanowego (PFOA; *perfluorooctanoic acid*), będącego przedstawicielem grupy PFAS, na parametry morfologiczne, fizjologiczne oraz markery stresu środowiskowego wierzby wiciowej (*Salix viminalis* L.) w warunkach uprawy hydroponicznej.

Przeprowadzono krótkoterminowy eksperyment, w którym zastosowano zrzesy wierzby wiciowej umieszczone w roztworze pożywki płynnej kontrolnej oraz zawierającej PFOA o stężeniach 0,1; 1,0 oraz 10 mg · dm<sup>-3</sup>. Przygotowane ten sposób warianty doświadczalne uprawiano w kontrolowanych warunkach oświetlenia, temperatury, wilgotności powietrza oraz napowietrzania podłoża płynnego. Toksyczny wpływ PFOA był monitorowany poprzez analizę parametrów morfologicznych i fizjologicznych takich jak: biomasa pędów i korzeni, całkowita powierzchnia liści, całkowita zawartość białka rozpuszczalnego, zawartość barwników asymilacyjnych. Stopień peroksydacji lipidów wyrażony na podstawie zawartości związków reagujących z kwasem 2-tiobarbiturowym (TBARS) był analizowany jako marker uszkodzeń oksydacyjnych. Sprawność działania układu antyoksydacyjnego oceniano na podstawie aktywności enzymów antyoksydacyjnych takich jak peroksydaza askorbinianowa (APx), katalaza (CAT). Oznaczano również aktywność enzymu biorącego udział w reakcjach detoksykacji jakim jest S-transferaza glutationowa (GST).

Analiza uzyskanych wyników wykazała toksyczny wpływ PFOA na parametry morfologiczne wierzby wiciowej zwłaszcza, gdy związek ten był zastosowany w najwyższym stężeniu. Zawartość barwników asymilacyjnych ulegała zmianie pod wpływem PFOA i zależała od zastosowanego wariantu stężeniowego. Obecność PFOA w podłożu płynnym nie wywołała znacznych zmian aktywności badanych enzymów antyoksydacyjnych w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Silniejsza reakcja badanych roślin na obecność ksenobiotyku w podłożu była związana z indukcją aktywności GST będącego enzymem detoksykującym.

*Projekt współfinansowany przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej (NAWA). Numer umowy Agencji: PPN/BIT/2021/1/00100/U/00001*

*Projekt współfinansowany przez Uniwersytet Łódzki, Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza (IDUB) na podstawie decyzji numer 64/2021.*



## **Evaluation of the toxic effect of perfluorooctanoic acid (PFOA) on morphological and biochemical markers of environmental stress in willow (*Salix viminalis* L.) grown in hydroponics**

**A. Wyrwicka-Drewniak<sup>1</sup>, M. Zacchini<sup>2</sup>, F. Pietrini<sup>2</sup>, D. Pyjecka, A. Gryl**

<sup>1</sup> *Department of Plant Physiology and Biochemistry, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, Banacha Str.12/16, 90–237 Lodz*

<sup>2</sup> *Research Institute on Terrestrial Ecosystems (IRET), National Research Council of Italy (CNR), Via Salaria km 29.300, Monterotondo Scalo, 00015 Roma, Italy*

*e-mail: anna.wyrwicka@biol.uni.lodz.pl*

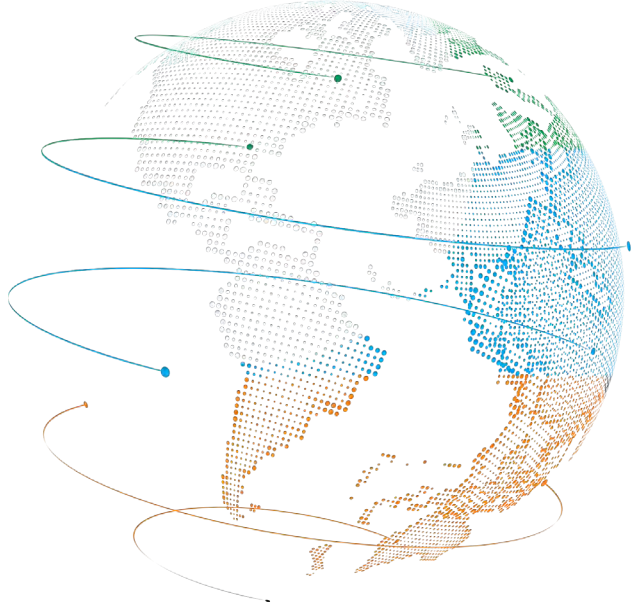
*Keywords: PFAS, perfluoroalkyl substances, PFOA, perfluorooctanoic acid, phytotoxicity, Salix viminalis, environmental stress, antioxidants, plant ecotoxicology, phytoremediation*

Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) are a group of heterogeneous compounds with amphipathic properties and exceptional resistance to chemical and thermal degradation. The unique properties of PFAS compounds have largely contributed to their wide application in industry and everyday items for almost 60 years. Currently, the occurrence of PFAS in the environment is viewed with great concern because, due to their ubiquitous presence, extreme persistence, long-range transportability and potential for bioaccumulation, these compounds pose a serious problem to both wildlife and human health.

The aim of the conducted research was to characterize the toxic effect of perfluorooctanoic acid (PFOA), a PFAS compound, on the morphological and physiological parameters of willow (*Salix viminalis* L.), as well as its markers of environmental stress, under hydroponic conditions. A short-term experiment was carried out using willow cuttings placed in a solution of a liquid medium containing control and PFOA at concentrations of 0.1; 1.0 and 10 mg · dm<sup>-3</sup>. The experimental variants were cultivated under controlled lighting, temperature and air humidity, as well as aeration of the liquid substrate. The toxic effect of PFOA was monitored by analyzing shoot and root biomass, total leaf area, total soluble protein content and assimilation pigment content. Oxidative damage was evaluated as the degree of lipid peroxidation, expressed as the content of substances reacting with 2-thiobarbituric acid (TBARS). The efficiency of the antioxidant system was assessed based on the activity of antioxidant enzymes such as ascorbate peroxidase (APx) and catalase (CAT). The activity of the enzyme involved in detoxification reactions, i.e., glutathione S-transferase (GST), was also determined. It was found that PFOA had toxic effects on the morphological parameters of willow, especially when administered at the highest concentration. The content of assimilation pigments changed under the influence of PFOA, depending on the concentration. The presence of PFOA in the liquid medium did not cause significant changes in the activity of the tested antioxidant enzymes compared to controls. A stronger reaction to the presence of PFOA was associated with detoxification, i.e., GST induction.

*The project is co-financed by the Polish National Agency for Academic Exchange (NAWA) granted on the basis of the decision number PPN/BIT/2021/1/00100/U/00001.*

*The project is co-financed by the University of Lodz, Initiative of Excellence – Research University (IDUB) on the basis of the decision number 64/2021.*



Eko  
Bio  
Tox

**POSTERY**

## Wpływ mikrocząstek plastiku na toksyczność wybranych pestycydów i ich biodegradację przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*

D. Antosiak<sup>1</sup>, J. Miziolek<sup>1</sup>, J. Dworzyńska<sup>1</sup>, A. Jasińska<sup>2</sup>, P. Bernat<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Studenckie Koło Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne „SKN Bio-Mik” Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

<sup>2</sup> Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

e-mail: UL0246009@edu.uni.lodz.pl

*Słowa kluczowe: mikroplastik, pestycydy, toksyczność, biodegradacja, Trichoderma*

Mikroplastik (MP) są to cząsteczki o wielkości mniejszej niż 5 mm, których głównym źródłem są większe cząsteczki plastiku, które uległy degradacji pod wpływem czynników atmosferycznych. Jednak MP może być również wytwarzany celowo, przyjmować postać granulek, kuleczek, nitek, włókien i proszku. Takie drobinki wykorzystywane są m.in. w produktach higieny osobistej, takich jak pasty do zębów, szampony i żele pod prysznic oraz proszki do prania, pełniąc funkcje ściernie lub wygładzające. Wchodzą również w skład odzieży.

Najpowszechniej MP występuje w wodach morskich i lądowych. Jego obecność udowodniono również w tkankach zwierzęcych w tym we krwi ludzkiej i łożysku. MP jest obecny w glebach rolniczych, a w szczególności tam, gdzie jest ona traktowana kompostem z osadów ściekowych. Jego obecność została również wykryta w glebach przybrzeżnych oraz przy polach uprawnych. Obecność mikrocząstek plastiku może wpływać na organizmy występujące w glebie, w tym drobnoustroje. Plastik może działać toksycznie zarówno na pojedyncze organizmy, jak i na całe ich populacje, a także modyfikować interakcje zachodzące między organizmami. Dodatkowo fragmenty plastiku mają zdolność do adsorbowania również innych zanieczyszczeń, w tym pestycydów. Mogą one zatem wpływać na toksyczność i biodostępność tych zanieczyszczeń wobec mikroorganizmów występujących w glebie.

Celem niniejszej pracy było zbadanie toksyczności czterech powszechnie stosowanych pestycydów w obecności mikrocząstek plastiku. Oceniono również wpływ MP na biodegradację wybranego pestycydu przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*. W badaniach wykorzystano polietylen o niskiej gęstości (LDPE) o wielkości cząstek 100–500  $\mu\text{m}$  oraz następujące pestycydy: metolachlor (MET), alachlor (ALA), kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) i kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA). We wstępnym etapie badań oceniono toksyczność pestycydów stosując testy z wykorzystaniem roślin (*Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum* i *Sinapis alba*) oraz bakterii (*Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*). Stwierdzono, że dodatek MP (w stężeniu 5 g L<sup>-1</sup>) istotnie wpływa na toksyczność MET, ALA, 2,4-D oraz MCPA (100 mg L<sup>-1</sup>) wobec badanych organizmów testowych. W kolejnym etapie badań analizowano wpływ MP na wzrost grzybów *T. harzianum* oraz *T. konigii* oraz biodegradację przez te drobnoustroje MET dodawanego w stężeniu 50 mg L<sup>-1</sup>. W przypadku grzyba *T. harzianum* stwierdzono, że dodatek MP nieznacznie zwiększał produkcję grzybni, podczas gdy w hodowlach prowadzonych z dodatkiem MP i MET zawartość biomasy po 24 godzinach hodowli była zbliżona do zawartości grzybni w hodowlach kontrolnych (nie zawierających żadnego

z zanieczyszczeń). Z kolei w przypadku *T. konigii* sucha masa grzybni uzyskana z hodowli namnażanych w obecności MP, MET lub obu tych związków dodanych jednocześnie była o odpowiednio 28; 47 i 55% niższa niż w hodowli kontrolnej. Jednocześnie stwierdzono, że dodatek MP wpłynął korzystnie na eliminację MET ze środowiska wzrostu przez badane grzyby.

Uzyskane wyniki wskazują, że MP obecny w środowisku pojedynczo lub w obecności innych zanieczyszczeń może działać toksycznie na wybrane organizmy w nim występujące, a także wpływać na toksyczność wybranych pestycydów i modyfikować ich biodegradację przez wybrane grzyby z rodzaju *Trichoderma*.

*Projekt finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki w Krakowie przyznanych na podstawie umowy nr UMO 2020/39/B/NZ9/00471.*



## The impact of plastic micro-particles on the toxicity of selected pesticides and their biodegradation by *Trichoderma* fungi

D. Antosiak<sup>1</sup>, J. Miziolek<sup>1</sup>, J. Dworzyńska<sup>1</sup>, A. Jasińska<sup>2</sup>, P. Bernat<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Student Circle of Biotechnology and Microbiology “SKN Bio-Mik” Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, 12/16 Banacha St., 90–237 Lodz

<sup>2</sup> Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, 12/16 Banacha Street, 90–237 Lodz  
e-mail UL0246009@edu.uni.lodz.pl

*Keywords:* microplastic, pesticides, toxicity, biodegradation, *Trichoderma*

Microplastics (MP) are particles smaller than 5 mm, whose main source is larger plastic particles that have degraded due to atmospheric factors. However, MP can also be intentionally produced in the form of pellets, beads, fibers, and powders. Such particles are used in personal hygiene products such as toothpaste, shampoos, shower gels, and laundry detergents, serving as abrasives or smoothing agents. They are also present in clothing.

MP is most commonly found in marine and land waters. Its presence has also been proven in animal tissues, including human blood and placenta. MP is present in agricultural soils, especially where it is treated with compost from sewage sludge. Its presence has also been detected in coastal soils and fields. The presence of plastic micro-particles can affect organisms present in the soil, including microorganisms. Plastic can be toxic to both individual organisms and entire populations, and can also modify interactions between organisms. Additionally, plastic fragments have the ability to adsorb other pollutants, including pesticides. They can therefore affect the toxicity and bioavailability of these pollutants to microorganisms present in the soil.

The aim of this study was to investigate the toxicity of four commonly used pesticides in the presence of plastic micro-particles. The study also assessed the impact of MP on the biodegradation of a selected pesticide by *Trichoderma* fungi. In the study, low-density polyethylene (LDPE) with a particle size of 100–500  $\mu\text{m}$  and the following pesticides were used: metolachlor (MET), alachlor (ALA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), and 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA). In the preliminary stage of the study, the toxicity of the pesticides was assessed using tests with plants (*Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum*, and *Sinapis alba*) and bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*). It was found that the addition of MP (at a concentration of 5 g L<sup>-1</sup>) significantly affected the toxicity of MET, ALA, 2,4-D, and MCPA (at a concentration of 100 mg L<sup>-1</sup>) towards the tested organisms. In the next stage of the study, the effect of MP on the growth of *T. harzianum* and *T. konigii* fungi, as well as the biodegradation of MET added at a concentration of 50 mg L<sup>-1</sup> by these microorganisms, was analyzed. In the case of *T. harzianum*, it was found that the addition of MP slightly increased the production of mycelium, while in cultures conducted with the addition of MP and MET, the biomass content after 24 hours of cultivation was similar to the mycelium content in control

cultures (without any contaminants). On the other hand, in the case of *T. konigii*, the dry weight of mycelium obtained from cultures propagated in the presence of MP, MET, or both compounds added simultaneously was respectively 28%, 47%, and 55% lower than in the control culture. At the same time, it was found that the addition of MP had a beneficial effect on the elimination of MET from the growth environment by the tested fungi. The results obtained indicate that MP present in the environment singly or in the presence of other pollutants may act toxic to selected organisms present in it and also affect the toxicity of selected pesticides and modify their biodegradation by selected *Trichoderma* fungi.

*This research was funded by the National Science Centre, Poland, grant number 2020/39/B/NZ9/00471.*

## Rozprzestrzenianie się genów oporności na antybiotyki w mikrobiomie glebowym i roślinnym pod wpływem nawożenia obornikiem zwierzęcym

R. Attanayake Mudiyanse<sup>1</sup>, E. Mierzejewska<sup>1</sup>, A. Bednarek<sup>1</sup>, J. M. Kupiec<sup>2</sup>,  
M. Urbaniak<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup> Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Uniwersytet Łódzki, Polska

<sup>2</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Ekologii i Ochrony Środowiska, Poznań, Polska

<sup>3</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, Polska

e-mail: magdalena.urbaniak@biol.uni.lodz.pl

*Słowa kluczowe: nowopojawiające się zanieczyszczenia budzące niepokój, nawozy organiczne, geny oporności na antybiotyki, mobilne elementy genetyczne, mikrobiom*

Szacuje się, że w ciągu najbliższych trzech dekad liczba ludności na świecie wzrośnie do 9,8 miliarda. Jednocześnie ilość żywności potrzebnej do wyżywienia tak szybko rosnącej populacji wzrośnie o 60%. Należy podkreślić iż już obecnie zapotrzebowanie na żywność generuje ogromną presję na rolnictwo, co w konsekwencji prowadzi do nadmiernej eksploatacji i zubożenia gleb. Konieczność zwiększonej produktywności upraw skutkuje nadmiernym stosowaniem syntetycznych agrochemikaliów, a to z kolei pogorszeniem właściwości gleby. Aby zapobiec tym procesom stosowanie dodatków organicznych (np. gnojowicy zwierzęcej, obornika, kompostu, osadów ściekowych itp.) zyskało duże zainteresowanie. Nawozy naturalne są niskokosztowe, przyjazne dla środowiska i stanowią najlepsze podejście do gospodarki o obiegu zamkniętym. Pomimo iż nawozy organiczne mogą zwiększyć produktywność upraw i gleby, nie można jednak lekceważyć ryzyka rozprzestrzeniania się zanieczyszczeń w nich zawartych w systemie gleba-roślina. Do takich zanieczyszczeń należą m.in. nowopowstające zanieczyszczenia budzące niepokój (ang. *emerging contaminants*), do których należą pozostałości antybiotyków, bakterie odporne na antybiotyki (ARB) i geny oporności na antybiotyki (ARG). Antybiotyki z grupy tetracyklin, sulfonamidów, fluorochinolonów, makrolidów, aminoglikozydów i beta-laktamów są powszechnie stosowane w weterynarii. Potencjalny rozwój i rozprzestrzenianie się ARB i ARG zostały powiązane z obecnością antybiotyków w odchodach zwierzęcych. Literatura naukowa sugeruje, że stosowanie obornika i gnojowicy zawierających antybiotyki prowadzi do kumulacji w glebie determinantów antybiotykooporności i ich dalszego przenoszenia na uprawy, stwarzając zagrożenie dla bezpieczeństwa ludzi.

Biorąc pod uwagę powyższe, celem naszych badań było śledzenie rozprzestrzeniania się ARG w systemie gleba-roślina w warunkach nawożenia gleby rolniczej gnojowicą zwierzęcą. Gnojowica, zastosowana w doświadczeniach, pochodziła z trzech hodowli zwierząt gospodarskich: indyków, krów i trzody chlewnej. Glebę rolniczą nawożono gnojowicą rozcieńczoną wodą w stosunku 1:10, następnie wysiewano rzodkiewkę i uprawiano ją przez 45 dni. Aby śledzić rozprzestrzenianie się ARG w systemie gnojowica-gleba-roślina, próbki gleby pobierano co 5 do 15 dni, podczas gdy tkanki rzodkiewki zbierano w ostatnim dniu eksperymentu. Wyniki wykazały obecność ARG w próbkach obornika, gleby i roślin, wykazując wysoki stopień rozprzestrzeniania się determinantów antybiotykowych na warzywa, a tym samym wysokie zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt.

*Badania przeprowadzono w ramach programu ERASMUS MUNDUS Master in Applied Ecohydrology (MAEH).*



## Spread of antibiotic resistance genes in soil and plant microbiome under animal manure fertilization

R. Attanayake Mudiyanse<sup>1</sup>, E. Mierzejewska<sup>1</sup>, A. Bednarek<sup>1</sup>, J. M. Kupiec<sup>2</sup>,  
**M. Urbaniak**<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup> UNESCO Chair on Ecohydrology and Applied Ecology, University of Lodz, Poland

<sup>2</sup> Poznań University of Life Sciences, Department of Ecology and Environmental Protection, Poznan, Poland

<sup>3</sup> European Regional Centre for Ecohydrology of the Polish Academy of Sciences, Poland  
e-mail: magdalena.urbania@biol.uni.lodz.pl

*Keywords: Emerging pollutants, organic fertilizers, antibiotic resistance genes, mobile genetic elements, microbiom*

It is estimated that over the next three decades the world's population will increase to 9.8 billion. At the same time, the amount of food needed to feed such a rapidly growing population will increase by 60%. It should be emphasized that the demand for food already generates enormous pressure on agriculture, which in turn leads to excessive exploitation and impoverishment of soils. The need for increased crop productivity results in the excessive use of synthetic agrochemicals, which in turn deteriorate soil properties. To prevent these processes, the use of organic additives (e.g. animal slurry, manure, compost, sewage sludge, etc.) has gained a lot of interest. Natural fertilizers are low-cost, environmentally friendly and the best approach to a circular economy. Although organic fertilizers can increase crop and soil productivity, the risk of spreading pollutants in the soil-plant system cannot be underestimated. Such contaminants include emerging contaminants such as antibiotic residues, antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARG). Tetracycline, sulfonamide, fluoroquinolone, macrolide, aminoglycoside and beta-lactam antibiotics are commonly used in veterinary medicine. The potential development and spread of ARBs and ARGs has been linked to the presence of antibiotics in animal faeces. Scientific literature suggests that the use of manure and slurry containing antibiotics leads to the accumulation of antibiotic resistance determinants in the soil and their further transmission to crops, posing a threat to human safety.

Considering the above, the aim of our research was to track the spread of ARG in the soil-plant system under the conditions of fertilization of agricultural soil with animal slurry. The manure used in the experiment originated from 3 animal husbandries: turkey, cows and pigs. The agricultural soil was fertilized with manure diluted with water 1:10 following by seeding the cherry radish and its cultivation for 45 days. To track the spread of ARGs in the manure-soil-plant system, the soil samples were collected every 5 to 15 days while radish tissues were collected at the end of the experiment. The results showed presence of ARGs in manure, soil and plant samples demonstrating high degree of antibiotic determinants spreading to the vegetables and thus high risk for human and animal health.

*Research was performed in the framework of the ERASMUS MUNDUS Master in Applied Ecohydrology (MAEH).*



## Modułowe rozwiązania ograniczające emisję zanieczyszczeń ze źródeł punktowych i obszarowych, na terenach rolniczych, w celu ochrony wód

A. Bednarek<sup>1,2</sup>, J. M. Kupiec<sup>3</sup>, S. Szklarek<sup>1</sup>, J. Mankiewicz-Boczek<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, Tylna 3, 90–236 Łódź

<sup>2</sup> Uniwersytet Łódzki, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, ul. Banacha 12/15, 90–237 Łódź

<sup>3</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Ekologii i Ochrony Środowiska, ul. Piątkowska 94C, 60–649 Poznań

e-mail: [agnieszka.bednarek@biol.uni.lodz.pl](mailto:agnieszka.bednarek@biol.uni.lodz.pl)

*Słowa kluczowe: bariery dla usuwania biogenów, azot, bakterie, denitryfikacja, nityfikacja, biodegradacja*

W ramach prac badawczych wypracowano i zoptymalizowano dwa rozwiązania opierające się na naturalnych procesach nityfikacji i denitryfikacji. Pierwsze z nich to Modułowe Organiczne Płyty Obornikowe (Patent nr 235338), wykonane w dwóch lokalizacjach – Kobyli Miejskiej (gm. Szadek, woj. łódzkie) i Mikołajowie (gm. Rokiciny, woj. łódzkie). Mają one na celu redukcję ładunku azotu z odcieków z obornika bydłęcego i trzody chlewnej. Drugim rozwiązaniem jest wielopoziomowa biogeochemiczna rafa do redukcji zanieczyszczeń obszarowych na drodze denitryfikacji azotanów, defosforylacji fosforanów, redukcyjnej dehalogenacji i utleniania związków polichlorowanych bifenyli (nr zgłoszenia patentowego: P.439257). Rafa została zbudowana na polu jednego z gospodarstw w m. Łaszczyn (gm. Rawicz, woj. wielkopolskie). Przebieg prac przygotowawczych do badań obejmował budowę organicznych płyt, w których wykorzystano system modułowy, składający się z pojedynczych opakowań jutowych z odpowiednio przygotowanym substratem węglowym – mieszanina węgla brunatnego, słomy jęczmiennej, trocin sosnowych i węgla drzewnego. W przypadku wielopoziomowej rafy również wykorzystano system modułowy z substratem składającym się ze słomy jęczmiennej, trocinami oraz węglem brunatnym. Moduły organicznych płyt zostały zainstalowane w terenie na głębokości do 2 m, w trzech warstwach ku powierzchni (tzw. złoża horyzontalne) w rozmiarze (5 m x 10 m x 2 m) i złoża wertykalne w rozmiarze (1 m x 10 m x 2 m). Moduły wielopoziomowej rafy zostały zainstalowane w wykopanym rowie o głębokości 1,5 m, szerokości 1,0 m oraz długości 100 m. Dół pod rafę został umiejscowiony pomiędzy gruntem ornym, a rzeką Pijawką, w terenie ze spadkiem w kierunku rzeki. Każdy z modułów został odpowiednio uwilgotniony i zaszczipiony pulą bakterii denitryfikacyjnych – szczep *Pseudomonas fluorescens* (DN2606).

Tak głębokie posadowienie modułowych organicznych płyt obornikowych (modułowe OPO) jest odpowiedzią na zmiany klimatu i obniżanie się zwierciadła wód gruntowych i zapewnia wystarczające uwilgotnienie, co jest najistotniejszym czynnikiem dla ich optymalnej pracy zapewniając efektywną transformację/redukcję niebezpiecznych form azotu. Roczny monitoring obu modułowych OPO wykazał istotną redukcję wszystkich form azotu zarówno w obrębie płyty horyzontalnej jak i wertykalnej. Monitoring obecności genów związanych z procesem denitryfikacji – *nosZ* oraz nityfikacji – *amoA* w wybudowanych modułowych OPO wykazał, że zaproponowana kompozycja substratu węglowego zaszczipionego pulą bakterii denitryfikacyjnych zapewniła utrzymanie korzystnych warunków dla ich zasiedlenia przez pożyteczne bakterie odpowiedzialne za transformację azotanów i dalszy kompletny proces denitryfikacji. Jako dodatkową adaptację do zmian klimatu

w celu optymalizacji pracy modułowej OPO oraz wielopoziomowej biogeochemicznej rafy do redukcji zanieczyszczeń obszarowych na przyszłość podczas konstrukcji zaleca się przygotowanie zagłębienia nakierowującego spływ powierzchniowy, od strony pola uprawnego czy składowiska obornika, po intensywnych opadach deszczu do zagłębienia przed złożem wertykalnym (płytą pionową) w celu zwiększenia efektywności, zwłaszcza procesu denitryfikacji.

*Badania współfinansowane z projektu: AZOSTOP, NCBR, TANGO2/339929/NCBR/2017 oraz z Projektu nr RPWP.01.02.00-30-0010/17-00 (2018–2020 r.) pt. "Rozwój i optymalizacja innowacyjnej metody redukcji istotnych zanieczyszczeń punktowych rozproszonych oraz obszarowych na terenach wiejskich", finansowanego z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.*



## Modular solutions to reduce pollutant emissions from point and diffuse sources, in agricultural areas, to protect water

A. Bednarek<sup>1,2</sup>, J. M. Kupiec<sup>3</sup>, S. Szklarek<sup>1</sup>, J. Mankiewicz-Boczek<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> European Regional Centre for Ecohydrology, Polish Academy of Sciences, Tylna 3 st., 90–236 Łódź

<sup>2</sup> University of Lodz, UNESCO Department of Ecohydrology and Applied Ecology, Banacha 12/15 st., 90–237 Łódź

<sup>3</sup> Poznań University of Life Sciences, Department of Ecology and Environmental Protection, Piątkowska 94C st., 60–649 Poznań

e-mail: [agnieszka.bednarek@biol.uni.lodz.pl](mailto:agnieszka.bednarek@biol.uni.lodz.pl)

*Keywords: barriers to nutrient removal, nitrogen, bacteria, denitrification, nitrification, biodegradation*

Due to the research work, two solutions based on natural nitrification and denitrification processes were developed and optimized. The first of them are Modular Organic Manure Boards (Patent No. 235338), made in two locations – Kobyla Miejska (Szadek commune, Łódź province) and Mikołajów (Rokiciny commune, Łódź province). They are designed to reduce the nitrogen load from leachate from cattle manure and pigs. The second solution is a multi-level biogeochemical reef for the reduction of diffuse pollution by denitrification of nitrates, phosphate dephosphorylation, reduction dehalogenation and oxidation of polychlorinated biphenyl compounds (patent application number: P.439257). The reef was built on the field of one of the farms in Łaszczyn (Rawicz commune, Wielkopolskie province). The course of preparatory work for the research included the construction of organic plates in which a modular system was used, consisting of individual jute packages with a properly prepared carbon substrate – a mixture of lignite, barley straw, pine sawdust and charcoal. In the case of a multi-level reef, a modular system with a substrate consisting of barley straw, sawdust and brown coal was also used. Organic plate modules were installed in the field at a depth of up to 2 m, in three layers towards the surface (so-called horizontal deposits) in size (5 m x 10 m x 2 m) and vertical deposits in size (1 m x 10 m x 2 m). The modules of the multi-level reef were installed in a dug ditch with a depth of 1.5 m, a width of 1.0 m and a length of 100 m. The pit under the reef was located between the arable land and the Leech River, in the area with a slope towards the river. Each of the modules has been properly moistened and inoculated with a pool of denitrifying bacteria – *Pseudomonas fluorescens* strain (DN2606). Such a deep foundation of modular organic manure slabs (modular OPO) is a response to climate change and the lowering of the groundwater table and ensures sufficient moisture, which is the most important factor for their optimal operation, ensuring effective transformation/reduction of hazardous forms of nitrogen. Annual monitoring of both modular OPOs showed a significant reduction in all forms of nitrogen within both horizontal and vertical plates. Monitoring of the presence of genes related to the process of denitrification – *noseZ* and nitrification – *amoA* in the modular OPO showed that the proposed composition of the carbon substrate inoculated with a pool of denitrifying bacteria ensured the maintenance of favorable conditions for their colonization by beneficial bacteria responsible

for nitrate transformations and further complete denitrification process. As an additional adaptation to climate change in order to optimize the modular operation of OPO and multi-level biogeochemical reef to reduce diffuse pollution for the future, during construction, it is recommended to prepare a depression directing surface runoff, from the side of the washed field or manure landfill, after heavy rainfall to the pit in front of the vertical bed (vertical plate) to increase efficiency, especially the denitrification process.

*Research co-financed from the project: AZOSTOP, NCBR, TANGO2/339929/NCBR/2017 and from the Project no. RPWP.01.02.00-30-0010/17-00 (2018–2020) entitled “Development and optimization of an innovative method of reducing significant scatter and diffuse point pollution in rural areas”, financed by the European Regional Development Fund.*





## Wykorzystanie fluorescencji chlorofilu i zawartości barwników asymilacyjnych do oceny wpływu cieczy jonowych na rośliny

R. Biczak, D. Wojtala, B. Pawłowska

Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. J. Długosza w Częstochowie, al. Armii Krajowej 13/15,  
42–200 Częstochowa

e-mail: r.biczak@ujd.edu.pl

*Słowa kluczowe: ciecze jonowe, fluorescencja chlorofilu, barwniki asymilacyjne, rośliny*

Naukowcy na całym świecie od lat poszukują różnego typu narzędzi służących do oceny stanu środowiska przyrodniczego. W przypadku produkcji roślinnej ważnym jest stworzenie i dopracowanie metod, które pozwolą przewidzieć i ocenić wpływ różnych czynników na stan fizjologiczny roślin, ich wzrost oraz plonowanie. Niekorzystne skutki oddziaływania różnych stresorów na rośliny polegają m.in. na zakłóceniu ich wzrostu i rozwoju np. poprzez zaburzenie procesów metabolicznych przebiegających w komórce. Wszystkie rośliny zielone, zdolne do prowadzenia procesu fotosyntezy są wyposażone w system barwników asymilacyjnych, odpowiedzialnych m.in. za absorpcję światła. Do najważniejszych barwników asymilacyjnych zaliczyć można chlorofile i karotenoidy. Ponieważ barwniki asymilacyjne pochłaniają duże ilości energii to bardzo łatwo dochodzi w chloroplastach do nadprodukcji reaktywnych form tlenu. Wszelkie zmiany w środowisku oraz pojawiające się czynniki szkodliwe tj. różnego typu związki chemiczne, powodują zaburzenia w funkcjonowaniu aparatu fotosyntetycznego, powodując obniżenie wydajności fotosyntezy i ograniczając tym samym wzrost i rozwój roślin. Zmiany te możemy ocenić określając zawartość barwników asymilacyjnych w roślinach. Uważa się, że zawartość chlorofilu i karotenoidów są jednym z najlepszych biomarkerów stresu oksydacyjnego. Inną metodą pozwalającą na ocenę zaburzeń w procesie fotosyntezy jest określenie fluorescencji chlorofilu. Olbrzymim plusem tej metody jest fakt, że możemy wykonać ją bardzo szybko, bezinwazyjnie, bezpośrednio w środowisku wzrostu roślin, wykorzystując do tego fluorometr.

Jedną z bardzo interesujących i szeroko badanych grup związków chemicznych są ciecze jonowe (ILs). Dzięki swoim różnorodnym właściwościom oraz praktycznie nieograniczonym możliwościom syntezy znalazły szerokie uznanie wśród naukowców co przełożyło się również na wykorzystanie ich w przemyśle. Jednak z licznych doniesień literaturowych wiadomo, że związki te mogą mieć niekorzystny wpływ na różne elementy środowiska przyrodniczego, w tym na rośliny.

W prezentowanych badaniach oceniono zmiany fluorescencji chlorofilu i zawartości barwników asymilacyjnych u dwóch gatunków lądowych roślin wyższych – pszenicy (*Triticum aestivum* L.) i ogórka (*Cucumis sativus* L.) rosnących na glebie zawierającej ciecz jonową – chlorek tetrabutylamoniowy [TBA][Cl]. ILs dodano do gleby w stężeniach 1, 10, 100, 400, 700 i 1000 mg · kg<sup>-1</sup> s.m. gleby. W wyniku prowadzonych badań zaobserwowano, iż obecność [TBA][Cl] w glebie powodowała spadek zawartości barwników asymilacyjnych. Zmiany te były w dużym stopniu uzależnione od zastosowanego stężenia związku. Nie obserwowano natomiast większych zmian we fluorescencji chlorofilu u roślin rosnących na glebie z niższą zawartością ILs. Jedynie po zastosowaniu stężenia 400 mg · kg<sup>-1</sup> s.m. gleby obserwowano niewielkie zmiany w wartościach parametrów dotyczących fluorescencji chlorofilu. Natomiast po zastosowaniu wyższych stężeń [TBA][Cl] nie udało się zmierzyć fluorescencji, gdyż związek ten wpływał inhibującą na wzrost roślin co uniemożliwiło przeprowadzenie badań.

## Using chlorophyll fluorescence and assimilation pigment content to evaluate the effects of ionic liquids on plants

R. Biczak, D. Wojtala, B. Pawłowska

Jan Długosz University in Częstochowa, 13/15 Armii Krajowej AV., 42–200 Częstochowa  
e-mail: r.biczak@ujd.edu.pl

*Keywords: ionic liquids, chlorophyll fluorescence, assimilation pigments, plants*

Scientists around the world have been searching for years for various types of tools to assess the state of the natural environment. In the case of crop production, it is important to create and refine methods that can predict and assess the effects of various factors on the physiological state of plants, their growth and yield. The adverse effects of various stressors on plants include disrupting their growth and development, for example, by disrupting metabolic processes taking place in the cell. All green plants capable of photosynthesis are equipped with a system of assimilatory pigments, responsible, among other things, for light absorption. The most important assimilation pigments include chlorophylls and carotenoids. Since assimilatory pigments absorb large amounts of energy it is very easy for chloroplasts to overproduce reactive oxygen species. Any changes in the environment and the appearance of harmful factors, i.e. various types of chemical compounds, cause disorders in the functioning of the photosynthetic apparatus, causing a reduction in the efficiency of photosynthesis and thus limiting the growth and development of plants. We can assess these changes by determining the content of assimilatory pigments in plants. Chlorophyll and carotenoid contents are believed to be among the best biomarkers of oxidative stress. Another method to assess photosynthetic disorders is the determination of chlorophyll fluorescence. A huge advantage of this method is that we can perform it very quickly, non-invasively, directly in the plant growth environment, using a fluorimeter.

One very interesting and widely studied group of chemical compounds are ionic liquids (ILs). Thanks to their diverse properties and virtually unlimited synthesis possibilities, they have found wide acceptance among scientists which has also translated into their use in industry. However, it is known from numerous literature reports that these compounds can have adverse effects on various elements of the natural environment, including plants.

In the present study, we evaluated changes in chlorophyll fluorescence and assimilation pigment content in two species of terrestrial higher plants – wheat (*Triticum aestivum* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.) growing on soil containing the ionic liquid tetrabutylammonium chloride [TBA][Cl]. ILs were added to the soil at concentrations of 1, 10, 100, 400, 700 and 1000 mg kg<sup>-1</sup> of soil DW. As a result of the experiments, it was observed that the presence of [TBA][Cl] in the soil caused a decrease in the content of assimilation pigments. These changes were highly dependent on the applied concentration of the compound. In contrast, no major changes in chlorophyll fluorescence were observed in plants growing on soil with a lower content of ILs. Only after the application of a concentration of 400 mg kg<sup>-1</sup> of soil DW, slight changes were observed in the values of parameters concerning chlorophyll fluorescence. On the other hand, when higher concentrations of [TBA][Cl] were used, fluorescence could not be measured, as the compound had an inhibitory effect on plant growth, making the study impossible.

## Porównanie fitotoksycznego wpływu związków perfluoroalkilowych (PFAS) na wczesny rozwój wybranych gatunków roślin jedno- i dwuliściennych

L. Błażalek\*, A. Łacwik\*, A. Kondratieva\*, N. Pręcikowski\*, W. Tołoczko<sup>2</sup>, M. Zacchini<sup>3</sup>, F. Pietrini<sup>3</sup>, A. Wyrwicka-Drewniak<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

<sup>2</sup> Katedra Geografii Fizycznej, Wydział Nauk Geograficznych, ul. Narutowicza 88, 90–139 Łódź

<sup>3</sup> Research Institute on Terrestrial Ecosystems (IRET), National Research Council of Italy (CNR), Via Salaria km 29.300, Monterotondo Scalo, 00015 Roma, Italy

\* Sekcja Fizjologii i Ekobiotechnologii Roślin Studenckiego Koła Naukowego Biologów Uniwersytetu Łódzkiego działająca w Katedrze Fizjologii i Biochemii Roślin

\* Opiekun naukowy Sekcji Fizjologii i Ekobiotechnologii Roślin Studenckiego Koła Naukowego Biologów Uniwersytetu Łódzkiego

e-mail: lidia.blazalek@uni.edu.lodz.pl

**Słowa kluczowe:** PFAS, związki perfluoroalkilowe, PFOA, kwas perfluorooktanowy, PFOS, kwas perfluorooktanosulfonowy, fitotoksyczność, fitoremediacja, mikrobiotesty, Phytotoxkit, *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum*, *Sinapis alba*, *Phacelia tanacetifolia*

Związki perfluoroalkilowe (PFAS; *perfluoroalkylated substances*) stanowią grupę syntetycznych substancji pochodzenia antropogenicznego, nie występujących naturalnie w środowisku. Pod względem budowy chemicznej są to pochodne alkilowe, w których wszystkie lub część atomów wodoru została zastąpiona atomami fluoru. Ze względu na wysoką energię wiązania węgiel-fluor, związki te charakteryzują się dużą trwałością oraz odpornością na rozkład biotyczny. Specyficzna budowa cząsteczek nadaje im charakter zarówno hydrofobowy jak i oleofobowy umożliwiając ich użycie jako substancji powierzchniowo czynnych i przyczyniając się, od lat 50 XX wieku, do ich powszechnego stosowania w przemyśle oraz produktach konsumenckich. Wyjątkowa stabilność PFAS, mobilność w środowisku oraz wysoki potencjał bioakumulacyjny, wzrastający wraz ze wzrostem długości łańcucha węglowego spowodowały, że związki te zostały zakwalifikowane jako substancje toksyczne zagrażające homeostazie ekosystemów oraz niebezpieczne dla zdrowia ludzi i zwierząt. Najnowsze dane prezentowane w literaturze międzynarodowej wskazują głównie na zawartość PFAS w różnego rodzaju matrycach środowiskowych, lecz stosunkowo niewiele informacji dotyczy wpływu tych związków na wzrost i rozwój roślin.

Celem badań było określenie wpływu obecności w podłożu PFAS takich jak: kwas perfluorooktanowy (PFOA; *perfluorooctanoic acid*) oraz kwas perfluorooktanosulfonowy (PFOS; *perfluorooctanesulfonic acid*) na kiełkowanie nasion oraz wzrost korzenia wybranych gatunków roślin jedno- i dwuliściennych. Aby zrealizować zamierzony cel, w pierwszej kolejności przeprowadzono eksperyment z zastosowaniem roślin *Phacelia tanacetifolia*, *Lepidium sativum* i *Sinapis alba* poddanych działaniu wody dejonizowanej (kontrola) oraz roztworów PFOA lub PFOS użytych w stężeniach 0,1; 1,0 i 10 mg · dm<sup>-3</sup> w doświadczeniu prowadzonym na szalkach Petriego. Następnie, przeprowadzono eksperyment przy użyciu mikrobiotestu fitotoksyczności ostrej Phytotoxkit, w którym rośliny z gatunków: *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum* i *Sinapis alba* zostały zastosowane jako bioindykatory. W teście kiełkowania nasion i wczesnego wzrostu roślin Phytotoxkit zastosowano dwa rodzaje podłoża stałego; gleba OECD oraz

gleba próchnicza, do których zaaplikowano wodę dejonizowaną w wariacie kontrolnym oraz roztwory PFOA lub PFOS przygotowane w taki sposób, by ostateczna zawartość tych związków osiągnęła 0,1; 1,0 i 10 mg · kg<sup>-1</sup> suchej masy podłoża.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały indukcję wzrostu korzenia roślin *Phacelia tanacetifolia* po zastosowaniu PFOA o stężeniu 1,0 i 10 mg · dm<sup>-3</sup> (odpowiednio o 5,9% oraz 27,1% kontroli). Natomiast, zastosowanie roztworu PFOS hamowało wzrost długości korzeni tego gatunku we wszystkich zastosowanych stężeniach (0,1; 1,0 i 10 mg · dm<sup>-3</sup>) odpowiednio o 8,7%, 14,9% oraz 15,5% względem wartości kontrolnej. Reakcja roślin *Sorghum saccharatum* na obecność PFOA w glebie OECD oraz w glebie próchnicznej była podobna i charakteryzowała się hamowaniem wzrostu korzenia we wszystkich zastosowanych wariantach (0,1; 1,0 i 10 mg · kg<sup>-1</sup> suchej masy podłoża) odpowiednio o 12%, 22% i 14% kontroli w przypadku zastosowania gleby OECD oraz o 10%, 28% i 12% kontroli, gdy eksperyment prowadzony przy użyciu gleby próchnicznej. Tendencja zmian długości korzenia po zastosowaniu PFOS zależała od rodzaju użytego podłoża stałego. W przypadku, gdy zastosowano glebę OECD zaobserwowano spadek długości korzenia w wariantach o niskiej i średniej zawartości PFOS odpowiednio o 14% i 19% wartości kontrolnej podczas gdy w wariacie 10 mg · dm<sup>-3</sup> stwierdzono indukcję wzrostu korzenia o 6% względem wartości kontrolnej. Przeciwnie, obecność PFOS w glebie próchnicznej wpływała stymulująco na wzrost długości korzenia w wariantach 0,1 i 1,0 mg · kg<sup>-1</sup> suchej masy podłoża, natomiast zastosowanie najwyższej zawartości PFOS w podłożu wywołało hamowanie wzrostu korzenia o 23% względem kontroli. W testach fitotoksyczności z zastosowaniem roztworów PFOA długość korzenia *Lepidium sativum* zmniejszała się wraz ze wzrostem stężenia roztworu i była mniejsza od kontrolnej o 2,5%, 5,8% oraz o 13% odpowiednio dla wariantów stężeniowych 0,1; 1,0 i 10 mg · dm<sup>-3</sup>. Obecność PFOA w podłożu stałym nieznacznie hamowała wzrost długości korzenia o 2,5% oraz 1,1% w wariantach 1,0 i 10 mg · kg<sup>-1</sup> suchej masy podłoża w przypadku gdy zastosowano glebę OECD, a w przypadku gdy PFOA znajdował się w glebie próchnicznej hamowanie wzrostu korzenia dotyczyło wariantów 0,1 i 1,0 mg · kg<sup>-1</sup> suchej masy podłoża i stanowiło 9,6% oraz 8,8% wartości stwierdzonej dla kontroli. Stymulacja wzrostu korzenia *Lepidium sativum* (o 7% względem kontroli) była obserwowana w wariacie o najniższej zawartości PFOA w glebie OECD oraz po zastosowaniu 10 mg PFOA · kg<sup>-1</sup> suchej masy w przypadku gleby próchnicznej (o 5% wartości kontrolnej). Zastosowanie PFOS wywołało podobny charakter zmian długości korzenia *Lepidium sativum* niezależnie od tego, czy substancja ta została zastosowana w roztworze wodnym czy została zaaplikowana do podłoża stałego. Najniższe i średnie stężenie/zawartość PFOS indukowały wzrost długości korzenia w testach szalkowych odpowiednio o 9% i 5% kontroli, natomiast w testach Phytotoxkit o 10% i 11% kontroli w przypadku zastosowania gleby OECD oraz 5% i 4% gdy PFOS był dodany do gleby próchnicznej. Po zastosowaniu PFOS w najwyższym wariacie, stymulacja wzrostu korzenia *Lepidium sativum* została stwierdzona jedynie w doświadczeniu z glebą OECD (o % kontroli), natomiast w przypadku zastosowania roztworu wodnego i dodania PFOS do gleby próchnicznej nastąpiło hamowanie wzrostu korzenia odpowiednio o 4,3% i 7,3% względem odpowiedniej kontroli. Zastosowanie PFOA i PFOS w roztworach wodnych w podobny sposób wpływało na charakter zmian długości korzenia u roślin *Sinapis alba*, z tym, że obecność PFOS wywołała silniejszy efekt. Najniższe zastosowane stężenie stymulowało wzrost korzenia o 13% kontroli w przypadku PFOA oraz o 30% w przypadku PFOS. Wzrost długości korzenia *Sinapis alba* był natomiast hamowany w wyższych stężeniach (1,0 i 10 mg · dm<sup>-3</sup>) odpowiednio o 1% i 18% w przypadku PFOA oraz 7,4% i 28% w przypadku PFOS. Podobny trend zmian został stwierdzony w przypadku testów fitotoksyczności z zastosowaniem gleby próchnicznej z dodatkiem PFOA, w którym najniższa zawartość tego związku indukowała o 8% wzrost długości korzenia, podczas gdy po zastosowaniu 10 mg PFOA · kg<sup>-1</sup> suchej masy gleby próchnicznej stwierdzono 5% zahamowanie wzrostu korzenia względem wartości kontrolnej. Zastosowanie PFOA w glebie OECD indukowało wzrost długości korzenia *Sinapis alba* o 6% i 9% kontroli, gdy

zawartość tego związku w podłożu wynosiła 0,1 i 1,0 mg · kg<sup>-1</sup> suchej masy, natomiast zastosowanie wyższej zawartości PFOA wykazało efekt hamujący (o 6% kontroli). Obecność PFOS w podłożu stałym w każdym przypadku wpływała hamująco na wzrost długości korzenia *Sinapis alba*. W przypadku zaaplikowania tego związku do gleby OECD stwierdzono zahamowanie wzrostu o 11%, 14% i 8% wartości kontrolnej, natomiast w doświadczeniu z glebą próchniczą o 27%, 7% i 11% odpowiednio dla zawartości 0,1; 1,0 i 10 mg · kg<sup>-1</sup> suchej masy podłoża.

Przeprowadzone badania wykazały zróżnicowany wpływ PFOA i PFAS na wzrost długości korzenia badanych roślin. Był on zależny od gatunku rośliny jak również od sposobu zaaplikowania substancji. Spośród przebadanych roślin *Sinapis alba* okazała się najbardziej wrażliwą na działanie związków perfluoroalkilowych. PFOS wywarł silniejszy wpływ na wzrost długości korzenia tej rośliny w porównaniu z PFOA i w zależności od stężenia/zawartości było to działanie zarówno stymulujące, gdy był zastosowany w roztworach wodnych, jak i hamujące we wszystkich rodzajach przeprowadzonych testów. Wyniki badań wykazały, że drugą rośliną wykazującą wysoką wrażliwość na działanie związków perfluoroalkilowych jest *Phacelia tanacetifolia*, w przypadku której przyrost długości korzenia był intensywnie hamowany przez PFOS, natomiast obecność PFOA wywarła indukujący wpływ na wartość wymienionego parametru morfometrycznego. Wzrost długości korzenia *Lepidium sativum* był hamowany jedynie przez najwyższą zastosowaną zawartość PFOS, a w pozostałych wariantach stwierdzono stymulację wzrostu organu. Zastosowanie PFOA w większości przypadków ograniczało wzrost długości korzenia *Lepidium sativum*. W przypadku roślin *Sorghum saccharatum* zastosowanie PFOA w każdym przypadku hamowało wzrost długości korzenia, natomiast wpływ PFOS był zależny od podłoża, do którego zaaplikowano związek.

*Projekt współfinansowany przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej (NAWA). Numer umowy Agencji: PPN/BIT/2021/1/00100/U/00001.*

*Projekt współfinansowany przez Uniwersytet Łódzki, Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza (IDUB) na podstawie decyzji numer 64/2021.*



## Comparison of perfluoroalkyl substances (PFAS) phytotoxicity for early development of selected monocotyledonous and dicotyledonous plant species

L. Błażalek\*, A. Łacwik\*, A. Kondratieva\*, N. Pręcikowski\*, W. Toloczko<sup>2</sup>, M. Zacchini<sup>3</sup>, F. Pietrini<sup>3</sup>, A. Wyrwicka-Drewniak<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Plant Physiology and Biochemistry, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, Banacha Str, 12/16, 90–237 Lodz, Poland

<sup>2</sup> Department of Physical Geography, Faculty of Geographical Sciences, Narutowicza Str. 88, 90–139 Lodz, Poland

<sup>3</sup> Research Institute on Terrestrial Ecosystems (IRET), National Research Council of Italy (CNR), Via Salaria km 29.300, Monterotondo Scalo, 00015 Roma, Italy

\* Section of Plant Physiology and Ecobiotechnology of the Students' Scientific Society of Biologists of the University of Lodz operating in the Department of Plant Physiology and Biochemistry

\* Scientific supervisor of the Plant Physiology and Ecobiotechnology Section of the Student Scientific Society of Biologists at the University of Lodz

lidia.blazalek@uni.edu.lodz.pl

**Keywords:** PFAS, perfluoroalkyl substances, PFOA, perfluorooctanoic acid, PFOS, perfluorooctane sulfonic acid, phytotoxicity, microbiotests, Phytotoxkit, *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum*, *Sinapis alba*, *Phacelia tanacetifolia*

Perfluoroalkylated substances (PFAS) are a group of synthetic substances of anthropogenic origin which do not naturally occur in the environment. Structurally, they are alkyl derivatives in which all or part of the hydrogen atoms have been replaced by fluorine atoms; as such, due to the high energy of the carbon-fluorine bond, they demonstrate high durability and resistance to biotic decomposition. As this specific structure gives the molecules both a hydrophobic and oleophobic character, they have been in widespread use as surfactants in industry and consumer products since the 1950s. The unprecedented stability of PFAS, combined with their mobility in the environment and high bioaccumulation potential, increasing with carbon chain length, have resulted in these compounds being classified as toxic substances that threaten the homeostasis of ecosystems. They are mostly dangerous to human and animal health. While recent data in international literature indicate that PFAS are retained in various types of environmental matrices, relatively little information is available on the effects of these compounds on plant growth and development.

The aim of the study was to determine the effect of the presence of PFAS, such as perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS), in the medium on seed germination and root growth in selected monocotyledonous and dicotyledonous plant species. In order to achieve the objective goal, an experiment was first conducted using *Phacelia tanacetifolia*, *Lepidium sativum* and *Sinapis alba* seeds treated with deionised water (control) and PFOA or PFOS solutions used at concentrations of 0.1, 1.0 and 10 mg · dm<sup>-3</sup> in Petri dishes. Subsequently, OECD soil and humus soil were assayed using the Phytotoxkit acute phytotoxicity microbiotest comprising the bioindicator species *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum* and *Sinapis alba*. Briefly, PFOA or PFOS solutions were prepared (0.1, 1.0 and 10 mg · kg<sup>-1</sup> dry weight of the medium) and deionised water was used as a control. It was found that 1.0 and

10 mg · dm<sup>-3</sup> PFOA induced *Phacelia tanacetifolia* root growth by 5.9% and 27.1% of control values. In contrast, 0.1, 1.0 and 10 mg · dm<sup>-3</sup> PFOS treatment inhibited the root length growth of this species by 8.7%, 14.9% and 15.5%, respectively, relative to controls. For *Sorghum saccharatum*, PFOA inhibited root growth in all concentration variants: i.e., by 12%, 22% and 14% of control in OECD soil and by 10%, 28% and 12% of control in humus soil for respectively 0.1; 1.0 and 10 mg · kg<sup>-1</sup> dry weight of substrate. Following PFOS application, the changes in root length depended on the type of solid substrate used: in OECD soil, 14% and 19% decreases were observed compared to controls in the low and medium PFOS variants, and a 6% increase in the 10 mg · dm<sup>-3</sup> variant. In contrast, PFOS stimulated root growth in the variants 0.1 and 1.0 mg · kg<sup>-1</sup> of substrate dry weight in the humus soil but inhibited it by 23% at the highest amount (10 mg · kg<sup>-1</sup>).

For *Lepidium sativum*, PFOA treatment decreased root length by 2.5%, 5.8% and 13% for concentration variants 0.1, 1.0 and 10 mg · dm<sup>-3</sup>, compared to controls. The presence of PFOA slightly inhibited root length growth, i.e., by 2.5% and 1.1% for the 1.0 and 10 mg · kg<sup>-1</sup> d.w. variants for OECD soil, and 9.6% and 8.8% in humus soil. In the variant with the lowest PFOA content, a 7% increase in root growth was found in the OECD soil after stimulation with 10 mg PFOA · kg<sup>-1</sup>, while 5% increase was noted in the humus soil after the application of dry matter. The application of PFOS induced similar changes in root length regardless of whether the substance was applied in an aqueous solution or applied to a solid substrate. The lowest and medium concentrations of PFOS induced 9% and 5% increases in root length in the Petri dish tests, 10% and 11% increases in the Phytotoxkit for OECD soil, and 5% and 4% increases for humus soil. The application of the highest level of PFOS stimulated root growth but only in the OECD soil experiment (by 2% of the control); aqueous solution and PFOS resulted in 4.3% and 7.3% inhibition compared to controls, respectively, in humus soil.

The aqueous PFOA and PFOS solutions had similar effects on root length in *Sinapis alba* plants, although PFOS had a stronger effect. The lowest concentration used stimulated root growth by 13% of controls for PFOA and by 30% for PFOS. In contrast, root length was inhibited at higher concentrations (1.0 and 10 mg · dm<sup>-3</sup>), i.e., by 1% and 18% for PFOA and 7.4% and 28% for PFOS. A similar trend was found in the phytotoxicity tests using humus soil with PFOA, where the lowest level induced an 8% increase in root length, and the highest (10 mg PFOA · kg<sup>-1</sup> dry weight humus soil) resulted in 5% inhibition. The application of 0.1 and 1.0 mg · kg<sup>-1</sup> dry weight PFOA in OECD soil induced 6% and 9% increases in root length, while 10 mg · dm<sup>-3</sup> PFOA resulted in 6% inhibition. In all cases (0.1; 1.0 and 10 mg · kg<sup>-1</sup> of substrate dry matter), the presence of PFOS in the solid medium inhibited root length by 11%, 14% and 8% in OECD soil and 27%, 7% and 11% in humus soil.

PFOA and PFAS clearly have different effects on root length in the studied plants, with the change being dependent on both the species and method of application. Of the plants tested, *Sinapis alba* proved to be the most sensitive to perfluoroalkyl compounds: PFOS induced a greater change in root length compared to PFOA, and both stimulation or inhibition was found following treatment with aqueous solutions, depending on the concentration/content. The second most sensitive plant was *Phacelia tanacetifolia*, in which root length was intensively inhibited by PFOS, but stimulated by PFOA. In *Lepidium sativum*, root length was inhibited by the highest PFOS dose, and stimulated by the others; in most cases, PFOA limited root growth. For *Sorghum saccharatum*, all variants of PFOA inhibited root length growth, while the effect of PFOS was dependent on the medium type.

*The project is co-financed by the Polish National Agency for Academic Exchange (NAWA) granted on the basis of the decision number PPN/BIT/2021/1/00100/U/00001.*

*The project is co-financed by the University of Lodz, Initiative of Excellence – Research University (IDUB) on the basis of the decision number 64/2021.*

## Oddziaływanie Roundupu na rozwój zarodkowy i proces wylęgania się larw z ikry karpia (*Cyprinus carpio*)

B. Bojarski<sup>1</sup>, M. Jakubiak<sup>2</sup>, B. Tombarkiewicz<sup>3</sup>, K. Pawlak<sup>3</sup>, L. Szala<sup>4</sup>, P. Piskula<sup>5</sup>,  
A. M. Astel<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Zakład Ichtiobiologii i Gospodarki Rybackiej w Gołyszach, Polska Akademia Nauk, ul. Kalinowa 2, Zaborze, 43–520 Chybie

<sup>2</sup> Katedra Kształtowania i Ochrony Środowiska, Wydział Geodezji Górniczej i Inżynierii Środowiska, AGH Akademia Górniczo-Hutnicza, al. Mickiewicza 30, 30–059 Kraków

<sup>3</sup> Katedra Zoologii i Dobrostanu Zwierząt, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, al. Mickiewicza 24/28, 30–059 Kraków

<sup>4</sup> Instytut Matematyki, Wydział Inżynierii Chemicznej, Uniwersytet Chemiczno-Technologiczny w Pradze, ul. Technická 5, 166 28 Praga 6, Republika Czeska

<sup>5</sup> Zakład Chemii Środowiskowej, Instytut Biologii i Nauk o Ziemi, Akademia Pomorska w Słupsku, ul. Arciszewskiego 22a, 76–200 Słupsk  
e-mail: bbojarski@o2.pl

*Słowa kluczowe:* pestycyd, ryba, zarodek, toksyczność

Zanieczyszczenie ekosystemów wodnych herbicydami jest obecnie problemem powszechnym. Narażenie ryb na działanie herbicydów skutkuje powstawaniem różnego typu zmian patofizjologicznych i histopatologicznych. Celem niniejszych badań było określenie wpływu ekspozycji na Roundup (powszechnie stosowany herbicyd) na rozwój ikry i wylęganie się larw karpia (*Cyprinus carpio* L.). W celu przeprowadzenia doświadczenia zapłodnioną ikrę umieszczono na szklanych szalkach Petriego (około 100 ziaren na szalkę). Ikrą utrzymywaną na szalkach kontrolnych nie była narażona na herbicydy. Ikrę eksperymentalną poddano działaniu dostępnemu w handlu preparatu herbicydowego Roundup® 360 Plus (Monsanto), który zawiera glifosat w postaci soli potasowej jako substancję czynną. Zastosowane w doświadczeniu stężenia odpowiadały 0,1 (grupa R1), 0,5 (grupa R2) lub 5 (grupa R3) mg/l substancji aktywnej. Każda grupa składała się z 20 szalek Petriego. Po 24 i 48 godzinach od początku inkubacji, a następnie co 6 godzin do końca trwania doświadczenia, określano stosunek procentowy zamarłych ziaren ikry, procent wylęgniętych larw oraz odsetek larw zdeformowanych. Ekspozycja zarodków na Roundup doprowadziła do istotnie zwiększonej śmiertelności, znacznego zmniejszenia wylęgowości i znaczącego zwiększenia udziału larw zdeformowanych. Zaobserwowane zmiany w śmiertelności ikry i dynamice wylęgu były na ogół zależne od stężenia zadanego herbicydu. Niniejsze badania wykazały, że Roundup może mieć negatywny wpływ na sukces rozrodczy karpia.





## Effects of Roundup on common carp (*Cyprinus carpio*) embryonic development and hatching

B. Bojarski<sup>1</sup>, M. Jakubiak<sup>2</sup>, B. Tombarkiewicz<sup>3</sup>, K. Pawlak<sup>3</sup>, L. Szala<sup>4</sup>, P. Piskula<sup>5</sup>,  
A. M. Astel<sup>5</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Ichthyobiology and Aquaculture in Golysz, Polish Academy of Sciences, Kalinowa 2, Zaborze, 43–520 Chybie, Poland*

<sup>2</sup> *Department of Environmental Management and Protection, Faculty of Mining Surveying and Environmental Engineering, AGH University of Science and Technology, Mickiewicza 30, 30–059 Krakow, Poland*

<sup>3</sup> *Department of Zoology and Animal Welfare, Faculty of Animal Science, University of Agriculture in Krakow, Mickiewicza 24/28, 30–059 Krakow, Poland*

<sup>4</sup> *Department of Mathematics, Faculty of Chemical Engineering, University of Chemistry and Technology, Prague, Technicka 5, 166 28 Prague 6, Czech Republic*

<sup>5</sup> *Environmental Chemistry Research Unit, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Arciszewskiego 22a, 76–200 Słupsk, Poland*  
e-mail: bbojarski@o2.pl

*Keywords: pesticide, fish, embryo, toxicity*

Contamination of water ecosystems with herbicides is a common problem nowadays. Exposure of fish to herbicides result in various pathophysiological and histopathological changes. The aim of the current study was to determine the effects of exposure to Roundup (a commonly used herbicide) on common carp (*Cyprinus carpio* L.) developing eggs and hatching. In order to carry out the experiment fertilized eggs were placed on glass Petri dishes (about 100 eggs per dish). The eggs kept in the control dishes were not exposed to herbicides. Experimental eggs were exposed to a commercial herbicide Roundup® 360 Plus (Monsanto), which contains glyphosate in the form of potassium salt as the active ingredient. The concentrations applied in the experiment corresponded to 0.1 (group R1), 0.5 (group R2) or 5 (group R3) mg/l of the active ingredient. Each group was consisted of 20 Petri dishes. The percentage of dead eggs, hatched larvae and deformed larvae were determined after 24 and 48 hours of incubation and every 6 hours thereafter until the end of the experiment. Exposure of embryos to Roundup led to a significantly increased mortality, a significant reduction in hatchability and a significant increase in the percentage of deformed larvae. The observed changes in embryo mortality and hatching dynamics were generally concentration-dependent. The results of the present study indicate that Roundup can reduce the reproductive success of common carp.



## **Preparaty mikrobiologiczne stosowane w rolnictwie i ochronie środowiska**

**J. Ciepiel**

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

*e-mail: jciepiel@iung.pulawy.pl*

*Słowa kluczowe: biopreparaty, rolnictwo, ochrona roślin*

Spełnienie wymagań jakie stawia przed rolnikami Unia Europejska (np. program azotanowy, Dz. U. z 2018 r. poz. 1339) wiąże się z coraz powszechniejszym stosowaniem biopreparatów. Ma to na celu ograniczenie lub całkowitą rezygnację ze stosowania nawozów chemicznych i środków ochrony roślin.

Całe spektrum działania tych produktów opiera się na żywych mikroorganizmach (bakterie, grzyby) lub na produktach ich metabolizmu. Produkty pochodzenia biologicznego, ze względu na skład, dzielą się na: grzybowe, bakteryjne, bakteryjno/grzybowo enzymatyczne, bakteryjno-grzybowe i enzymatyczne. Wśród biopreparatów możemy wyodrębnić bionawozy, biostymulatory, biopestycydy, oraz preparaty mikrobiologiczne.

Biopreparaty mikrobiologiczne stosowane w rolnictwie mają za zadanie ochronę roślin poprzez zahamowanie rozwoju patogennych grzybów lub bakterii. Stymulują wzrost roślin, zwiększają pobieranie składników pokarmowych, utrzymują właściwą strukturę gleby, a także sprzyjają zwiększeniu retencji wody. Drobnoustroje, występujące w biopreparatach mogą być źródłem witamin, aminokwasów oraz stymulatorów do rozwoju i wzrostu roślin. Wspomagają rośliny w przyswajaniu trudno dostępnych pierwiastków, korzystnie wpływają na tworzenie się próchnicy glebowej, przy jednoczesnym zapobieganiu gniciu. Ważnym aspektem stosowania biopreparatów jest niższy koszt uprawy w stosunku do rolnictwa konwencjonalnego. Nierzadko rolą biopreparatów jest przywrócenie żyzności gleby w miejscach o niekorzystnych warunkach, tj. gleby zasolone, o niskiej zawartości składników pokarmowych czy występowaniu metali ciężkich.

Do produkcji biopreparatów wykorzystuje się substancje pochodzenia naturalnego, mogą to być ekstrakty roślinne, polisacharydy lub substancje humusowe. O skuteczności biopreparatów decydują warunki środowiskowe, ważna jest wilgotność gruntu, powietrza czy występowanie opadów atmosferycznych. Odpowiednia produkcja i dopasowanie biopreparatu do warunków panujących w danej uprawie korzystnie wpłynie na jakość i zwiększenie plonów, eliminując przy tym negatywne skutki stosowania chemicznych środków ochrony roślin oraz nadmiernej ilości nawozów mineralnych.

*Badania wykonano w ramach Dotacji z Departamentu Hodowli i Ochrony Roślin dla IUNG-PIB, zadanie 1.7 „Preparaty mikrobiologiczne”.*



## **Microbiological preparations applied in agriculture and environmental protection**

**J. Ciepiel**

*Department of Agricultural Microbiology, Institute of Soil Science and Plant Cultivation  
e-mail: jciepiel@iung.pulawy.pl*

*Keywords: biopreparations, agriculture, plant protection*

Meeting the requirements that the European Union imposes on farmers (e.g., the nitrate program, Journal of Laws of 2018, item 1339) is associated with the increasingly widespread use of biopreparations. This is aimed at reducing or completely abandoning the use of chemical fertilizers and plant protection products.

The entire spectrum of action of these products is based on living microorganisms (bacteria, fungi) or their metabolic products. Bioproducts, based on their composition, are divided into: fungal, bacterial, bacterial/fungal/enzymatic, bacterial/fungal, and enzymatic. Among biopreparations we can distinguish bionavos, biostimulants, biopesticides, microbial preparations.

Microbial biopreparations used in agriculture are designed to protect plants by inhibiting the growth of pathogenic fungi or bacteria. They stimulate plant growth, increase nutrient uptake, maintain proper soil structure, and promote increased water retention. Microbes, found in biopreparations, can be a source of vitamins, amino acids and stimulants for plant growth and development. They assist plants in assimilating elements that are difficult to access, favorably influence the formation of soil humus, while preventing decay. An important aspect of using biopreparations is the lower cost of cultivation compared to conventional agriculture. It is not uncommon for the role of biopreparations to be to restore soil fertility in areas with unfavorable conditions, i.e. saline soils, low nutrient content or the presence of heavy metals.

Biopreparations use substances of natural origin, which can be plant extracts, polysaccharides or humic substances.

The effectiveness of biopreparations is determined by environmental conditions, the humidity of the soil, air or the occurrence of rainfall is important. Proper production and adjustment of the biopreparation to the conditions of the crop will favorably affect the quality and increase yields, while eliminating the negative effects of the use of chemical plant protection products and excessive mineral fertilizer.

*The research was performed under a Grant from the Department of Plant Breeding and Protection to IUNG-PIB, Task 1.7 “Microbiological preparations”.*



## Otoczkowanie nasion – jak zapewnić lepszy start roślinie

**J. Ciepiel**

*Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy  
e-mail: jciepiel@iung.pulawy.pl*

*Słowa kluczowe: otoczkowanie nasion, nasiona*

Otoczkowanie nasion jest jedną z metod poprawy materiału siewnego. Polega na mechanicznym okryciu nasiona funkcjonalną powłoką, którą możemy w zależności od potrzeby modyfikować dodając m.in.: środki ochrony roślin, stymulatory kiełkowania, mikroelementy, czy substancje wiążące wilgoć. Substancje stosowane w powlekaniu nasion dzielimy na spoiwa i wypełniacze. Spoiwa to polimery, naturalne, jak i syntetyczne, zapewniają przyczepność i spójność materiału na nasionach oraz zatrzymanie składników aktywnych. Najczęściej stosowane spoiwa to: metyloceluloza, glikol polietylenowy, chitozan, alkohol poliwinylowy, etyloceluloza, octan poliwinylu i guma arabska.

Wypełniaczami są zwykle substancje sypkie, takie jak bentonit, węglan wapnia, talk, ziemia okrzemkowa, torf, itp. Właściwości fizyczne i chemiczne wypełniaczy, w połączeniu ze spoiwem, zapewniają szerokie spektrum kombinacji wyników mechanicznych i biologicznych dla powłok.

Obecne badania nad możliwością zastosowania otoczkowanych nasion w praktyce rolniczej skupiają się głównie na optymalnym doborze komponentów otoczki, w celu zapewnienia pozytywnego wpływu na wzrost i rozwój roślin.

*Badania sfinansowano w ramach realizacji projektu „Zastosowanie mikroorganizmów i otoczkowania nasion dla poprawy żyzności gleb i plonu roślin w ekologicznej i konwencjonalnej uprawie roślin bobowatych” (NR 1/ININ 4.0/IUNG-PIB/2021) w ramach programu Inkubator Innowacyjności 4.0 (MNiSW).*



## Seed Coating – how to give the plant a better start

**J. Ciepiel**

*Department of Agricultural Microbiology, Institute of Soil Science and Plant Cultivation  
e-mail: jciepiel@iung.pulawy.pl*

*Keywords: seed coating, seeds*

Seed coating is one of the methods of seed improvement. It involves applying a functional cover into the seeds. The cover content can be modified depending on the need by adding e.g.: plant protection agents, germination stimulators, microelements or humidity binding substances. Substances used in seed coating are divided into binders and fillers. Binders are polymers, both natural and synthetic, which ensure the adhesion and cohesion of the material on the seed and the retention of active ingredients. The most commonly used binders are: methyl cellulose, polyethylene glycol, chitosan, polyvinyl alcohol, ethyl cellulose, polyvinyl acetate and arabic gum.

The fillers are usually free-flowing substances such as bentonite, calcium carbonate, talc, diatomaceous earth, peat, etc. The physical and chemical properties of the fillers, in combination with the binder, provide a wide range of combinations of mechanical and biological characteristics for coatings.

Current research on the applicability of encapsulated seeds in agricultural practice is mainly focused on the optimal selection of the encapsulation components to ensure positive effects on plant growth and development.

*The research was financed within the framework of the project “Application of microorganisms and seed pelleting for improving soil fertility and crop yield in organic and conventional cultivation of faba bean crops” (NR 1/ININ 4.0/IUNG-PIB/2021) under the program Inkubator Innowacyjności 4.0 (MNiSW).*

## **Analiza porównawcza bakterii zasiedlających jelito pszczele z mikroorganizmami obecnymi w pyłku kwiatowym**

**J. Ciepiel<sup>1</sup>, A. Marzec-Grządziel<sup>1</sup>, G. Borsuk<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

<sup>2</sup> Zakład Pszczelnictwa Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
e-mail: jciepiel@iung.pulawy.pl

*Słowa kluczowe: pszczoły, pyłek, sekwencjonowanie, bakterie*

Pszczoły miodne (*apis mellifera*) stanowią istotny element ekosystemu. Zapylenie roślin uprawnych i wytwarzanie produktów pszczelich mają ogromne znaczenie gospodarcze. Drobnoustroje występujące w jelitach pszczół (mikroflora jelitowa) są potrzebne do wytwarzania odporności na insektycydy, metabolizmu, a także biorą udział w prawidłowym rozwoju owada. Mikrobiom wspomaga przyswajanie składników odżywczych, trawienie lipidów i białek oraz detoksykacji wtórych związków roślinnych. Mikroorganizmy przewodu pokarmowego u pszczół pochodzą ze środowiska naturalnego. Wraz z pożywieniem, tj. nektar, pyłki, woda, do mikrobiomu mogą przedostawać się środki ochrony roślin co powoduje zmniejszenie kolonii pszczół.

Celem tego badania było scharakteryzowanie mikroflory jelitowej pszczoły miodnej i porównanie z mikroorganizmami obecnymi w pyłku zebrany bezpośrednio w pasiece. DNA izolowano z wykorzystaniem komercyjnego zestawu. Uzyskane izolaty poddano analizie sekwencjonowania 16S rRNA. Uzyskane wyniki porównano pod względem składu mikrobiologicznego. Przeprowadzono analizy statystyczne mające na celu ukazanie ewentualnych różnic pomiędzy próbkami.

Analiza sekwencjonowania NGS wykazała iż większość bakterii zasiedlających jelito pszczele należała do Proteobacteria, do rodzajów *Snodgrassella* oraz *Gilliamella*. Znaczną ilość stanowiły także bakterie niesklasyfikowane należące do rodziny *Acetobacteraceae*. W próbkach pyłku przeważały natomiast bakterie należące do Actinobacteria, Proteobacteria, oraz Firmicutes. Przeważały rodzaje *Bacillus*, *Nocardia*, oraz *Methylobacterium*. Wykazano jednocześnie statystycznie większą ilość bakterii z rodzaju *Frischella*, *Bombilactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, oraz *Gilliamella* w próbkach jelita pszczelego. Jedynie 13 taksonów (ze 154) stanowiło mikrobiom rdzeniowy obecny zarówno w próbkach jelit oraz pyłku. Zaobserwowano 23 taksony unikatowe dla jelit pszczelich.

*Badania wykonano w ramach temat statutowego 1.04 IUNG-PIB „Charakterystyka endofitów bakteryjnych wyizolowanych z wybranych roślin miododajnych oraz określenie ich potencjału biotechnologicznego”.*



## Comparative analysis of bacteria inhabiting bee intestine with microorganisms present in pollen

J. Ciepiel<sup>1</sup>, A. Marzec-Grządziel<sup>1</sup>, G. Borsuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Agricultural Microbiology, Institute of Soil Science and Plant Cultivation

<sup>2</sup> Department of Beekeeping, Institute of Biological Basis of Animal Production, Faculty of Animal Sciences and Bioeconomy, University of Life Sciences in Lublin

e-mail: jciepiel@iung.pulawy.pl

*Keywords: bees, pollen, sequencing, bacteria*

Honey bees (*Apis mellifera*) are an important part of the ecosystem. Pollination of crops and production of bee products are of great economic importance. The microorganisms in the bees' gut (intestinal microflora) are needed for insecticide resistance, metabolism, and are also involved in the proper development of the insect. The microbiome assists in the absorption of nutrients, digestion of lipids and proteins, and detoxification of secondary plant compounds. The gastrointestinal microbiome in bees is derived from the natural environment. Along with food, i.e. nectar, pollen, water, pesticides can enter the microbiome, resulting in a decrease in bee colonies.

The purpose of this study was to characterize the gut microflora of the honey bee and compare it to the microorganisms present in pollen collected directly from the apiary. DNA was isolated using a commercial kit. The isolates obtained were subjected to 16S rRNA sequencing analysis. The obtained results were compared in terms of microbial composition. Statistical analyses were performed to show possible differences between samples.

NGS sequencing analysis showed that most of the bacteria colonizing the bee intestine belonged to Proteobacteria, to the genera *Snodgrassella* and *Gilliamella*. Unclassified bacteria belonging to the family *Acetobacteraceae* were also present in significant numbers. In pollen samples, however, bacteria belonging to Actinobacteria, Proteobacteria, and Firmicutes predominated. The genera *Bacillus*, *Nocardia*, and *Methylobacterium* prevailed. At the same time, a statistically higher number of bacteria from the genera *Frischella*, *Bombilactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Gilliamella* was shown in bee intestine samples. Only 13 taxa (out of 154) represented the core microbiome present in both gut and pollen samples. Twenty-three taxa unique to the bee gut were observed.

*The research was carried out within the framework of the statutory subject 1.04 of IUNG-PIB "Characterization of bacterial endophytes isolated from selected melliferous plants and determination of their biotechnological potential".*

## Mikrobiologiczne wskaźniki jakości środowiska glebowego na przykładzie mady rzecznych

K. Furtak<sup>1</sup>, K. Gawryjolek<sup>1</sup>, J. Ciepiał<sup>1</sup>, J. Niedźwiecki<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii Rolniczej

<sup>2</sup> Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24–100 Puławy

e-mail: [kfurtak@iung.pulawy.pl](mailto:kfurtak@iung.pulawy.pl)

*Słowa kluczowe: jakość gleby, mady rzeczne, wskaźniki mikrobiologiczne*

Mady rzeczne to gleby charakteryzujące się dużą żyznością.

Celem badań była analiza wskaźników mikrobiologicznych świadczących o jakości środowiska glebowego oraz ich zestawienie z parametrami fizyko-chemicznymi.

Materiał badawczy stanowiły trzy różne mady rzeczne – Fluvisole – pobrane w woj. lubelskim z doliny rzeki Wisły w miejscowości Opatkowice. Każda z gleb została pobrana z dwóch lokalizacji: (1) spod uprawy porzeczek czarnej; (2) z łąki, nieuprawianej. W glebach oznaczono: liczebność ogólną bakterii, liczebność ogólną bakterii beztlenowych, aktywność dehydrogenaz (DHa), aktywność fosfatazy kwaśnej (AcP) i zasadowej (AIP) oraz zawartość węgla (MBC) i azotu (MBN) w biomacie drobnoustrojów. Analizowane parametry fizyko-chemiczne obejmowały: pH, zawartość azotu całkowitego ( $N_{tot}$ ), przewodność elektryczną (EC), zawartość węgla organicznego ( $C_{org}$ ), zawartość próchnicy, a także zawartość przyswajalnego fosforu i potasu.

Wyniki wykazały, że uprawa porzeczek wpływa na jakość środowiska glebowego. W mady lekkiej i ciężkiej aktywność enzymatyczna i zawartość MBC oraz MBN były wyższe w wariancie nieuprawianym (łąka) niż uprawianym. Co ciekawe, liczebność bakterii była natomiast wyższa w glebach spod uprawy porzeczek. W mady z wysoką zawartością azotu, węgla i potasu uzyskano również wysokie wartości wskaźników mikrobiologicznych. Najbardziej żyzna i aktywna mikrobiologicznie okazała się mada ciężka.

Uzyskane wyniki wskazują, że żyzność gleby w rozumieniu wysokiej zawartości składników odżywczych koresponduje z wysoką aktywnością mikroorganizmów. Dodatkowo, można stwierdzić, że działalność człowieka ma wpływ na jakość środowiska glebowego.

*Badania wykonano w ramach projektu nr 2019/35/N/NZ9/00830 pt. Poszukiwanie bakterii adaptujących się do ekstremalnych warunków wilgotności gleby oraz ocena wpływu stresu hydrologicznego na jakość środowiska glebowego (Preludium 18) finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (NCN).*





## **Microbiological indicators of the quality of the soil environment on the example of river muds**

**K. Furtak<sup>1</sup>, K. Gawryjolek<sup>1</sup>, J. Ciepiel<sup>1</sup>, J. Niedźwiecki<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Department of Agricultural Microbiology*

<sup>2</sup> *Department of Soil Science Erosion and Land Conservation, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, 8 Czartoryskich St., 24–100 Puławy*

*e-mail: kfurtak@iung.pulawy.pl*

*Keywords: soil quality, river muds, microbiological indicators*

River muds are soils characterised by high fertility.

The aim of this study was to analyse the microbiological indicators indicative of the quality of the soil environment and their comparison with physico-chemical parameters.

The study material consisted of three different river muds – Fluvisols – collected in the Lublin voivodeship from the Vistula River valley in Opatkowice. Each soil was taken from two locations: (1) from under blackcurrant cultivation; (2) from a meadow, not cultivated. The following were determined in the soils: total bacterial count, total anaerobic bacteria count, dehydrogenase activity (DHa), acid phosphatase (AcP) and alkaline phosphatase (AIP) activity, and carbon (MBC) and nitrogen (MBN) content in microbial biomass. Physico-chemical parameters analysed included pH, total nitrogen content (Ntot.), electrical conductivity (EC), organic carbon content (Corg.), humus content, and available phosphorus and potassium content.

The results showed that currant cultivation affects the quality of the soil environment. In the light and heavy soils, enzyme activity and the contents of MBC and MBN were higher in the uncultivated (meadow) than in the cultivated variant. Interestingly, however, bacterial abundance was higher in the currant-cultivated soils. In the silts with high nitrogen, carbon and potassium contents, high values of microbial indicators were also obtained. The heavy silt proved to be the most fertile and microbiologically active.

The results indicate that soil fertility in the sense of high nutrient content corresponds to high microorganism activity. In addition, it can be concluded that human activity influences the quality of the soil environment.

*The research was carried out within the framework of project No. 2019/35/N/NZ9/00830 entitled The search for bacteria adapting to extreme soil moisture conditions and the assessment of the effects of hydric stress on the quality of the soil environment (Prelude 18) funded by the National Science Centre Poland (NCN).*

## **Oddziaływanie między mikrobiomem, mykobiomem i metawiriomem ryzosfery i endoryzosfery roślin ruderalnych oraz ich rola w biernej i czynnej remediacji gleb silnie zdegradowanych i długotrwale zanieczyszczonych ropą naftową**

### **A. Gałązka**

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

*Słowa kluczowe: profil metaboliczny, mikrobiom i mykobiom gleb, ropa naftowa, bioremediacja*

Ropa naftowa i jej pochodne należą do jednych z najniebezpieczniejszych źródeł zanieczyszczeń ekosystemów. Produkty ropopochodne poprzez skażenie środowiska naturalnego stanowią czynnik zagrożenia dla zdrowia publicznego. Głównym warunkiem skutecznej bioremediacji skażonych gleb jest obecność mikroorganizmów zdolnych nie tylko do katabolicznej degradacji zanieczyszczeń, ale także posiadających szereg innych właściwości potwierdzających ich potencjał biotechnologiczny i adaptacyjny. Zdolność naturalnego środowiska skażonego szkodliwymi substancjami do samoistnego oczyszczenia wciąż stanowi zagadkę dla świata nauki. W trakcie długoletniego skażenia i postępującej samoczynnie naturalnej bioremediacji gleba zostaje bogato zasiedlona przez spontaniczną roślinność ruderalną. Ryzosfera i endoryzosfera tych roślin stanowi unikatowe siedlisko różnorodnych bakterii i grzybów posiadających wysoki potencjał biotechnologiczny. Zarówno mikroorganizmy, jak i rośliny adaptujące się do wzrostu w warunkach skażenia mogą wytworzyć szereg mechanizmów obronnych. Roślinność relikto-wa charakteryzuje się także dużą różnorodnością genetyczną, fizjologiczną i metaboliczną. Rośliny przystosowane do wzrostu w zanieczyszczonym miejscu mogą posiadać (lub wytworzyć) unikalne cechy. Głównym celem projektu jest wyjaśnienie roli roślinności ruderalnej, jej ryzosfery, endoryzosfery, autochtonicznych mikroorganizmów i bakteriofagów w procesach naturalnej, spontanicznej bioremediacji gleb długoletnio zanieczyszczonych. Cele szczegółowe projektu obejmują: wyjaśnienie, w jaki sposób rośliny reliktowe uruchamiają i rozwijają swoje mechanizmy adaptacyjne i obronne; zdefiniowanie roli i wyjaśnienie mechanizmów adaptacyjnych mikroorganizmów i bakteriofagów w procesach długotrwałej naturalnej bioremediacji. Zarówno gleby jak i rośliny zostaną pobrane spod wyciągów ropy naftowej na terenie historycznej Kopalni Ropy Naftowej w Węglówce. Tereny te zostały silnie zanieczyszczone i zdegradowane (ponad 100 lat zanieczyszczenia). Niemniej jednak od zamknięcia kopalni do chwili obecnej ropa naftowa ciągle wypływa spontanicznie z odwiertów naftowych. Stały przepływ ropy naftowej powoduje trwałe zanieczyszczenie obszaru przy jednocześnie postępującej samoistnej, naturalnej remediacji. Obszar ten jest także bogato porośnięty roślinnością relikto-wą. Próbkę gleb zostaną pobrane z wybranych 9 najstarszych odwiertów naftowych. Do badań zostanie wybranych 5 gatunków roślin ruderalnych. DNA zostanie wyizolowane bezpośrednio z gleby, ryzosfery i endoryzosfery. Wykonana zostanie izolacja i charakterystyka szczepów bakteryjnych i grzybowych wyizolowanych z ryzosfery i endoryzosfery roślin ruderalnych. Szczepy zostaną ocenione na podstawie testów morfologicznych, biochemicznych i genetycznych. Wykonane zostaną oznaczenia: różnorodności funkcjonalnej z wykorzystaniem systemu Biolog, sekwencjonowania następnej generacji (NGS) regionów zmiennych (16S rRNA dla bakterii i ITS dla grzybów) oraz wirusowe NGS (sekwencjonowanie Shotgun). Ponadto zostaną

określone parametry chemiczne próbek roślinnych i glebowych (Corg, Nmin, Σ16 WWA i pierwiastki śladowe). W materiale roślinnym zostanie oceniona: aktywność biologiczna wybranych metabolitów wtórnych, nagromadzenie pigmentów fotosyntetycznych, funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego, określenie profilu metabolomicznego i zawartość związków fenolowych. Oprócz roślin wybranych z terenów skażonych do badań zostaną użyte rośliny kontrolne (pobrane z obszarów nieskażonych).

Projekt ten będzie jedną z pierwszych prób tak szeroko zakrojonej identyfikacji wpływu długoterminowego zanieczyszczenia gleby na właściwości fizykochemiczne oraz biologiczne, jak również oceny bioróżnorodności gleb i roślin w połączeniu z profilowaniem bakterii, grzybów i bakteriofagów. Nowa wiedza zdobyta w ramach projektu doskonale wypełni lukę w ocenie bioróżnorodności dotyczącej wciąż nieodkrytych cech biologicznych i molekularnych gleb i roślin skażonych ropą naftową. Ponadto projekt ten będzie stanowił pierwsze tak szczegółowe podejście do wyjaśnienia interakcji między mikrobiomem, mykobiomem i metawiriomem ryzosfery i endoryzosfery roślin ruderalnych oraz ich udziału w procesach bioremediacji.

*Badania przeprowadzono w ramach realizacji projektu: NCN 2022/45/B/NZ8/02398 „Oddziaływanie między mikrobiomem, mykobiomem i metawiriomem ryzosfery i endoryzosfery roślin ruderalnych oraz ich rola w biernej i czynnej remediacji gleb silnie zdegradowanych i długotrwale zanieczyszczonych ropą naftową” (2023–2027).*



## **The interaction between the microbiome, mycobiome and metavirome of the rhizosphere and endorhizosphere of ruderal plants and their role in the passive and active remediation of heavily degraded and long-term oil-contaminated soils**

**A. Gałazka**

*Department of Agricultural Microbiology, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Czartoryskich 8 Street, 24–100 Pulawy  
e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl*

*Keywords: metabolic profile, soil microbiome and mycobiome, crude oil, bioremediation*

Crude oil and its derivatives are one of the most dangerous sources of ecosystem pollution. Petroleum products pose a threat to public health by contaminating the natural environment. The main condition for effective bioremediation of contaminated soils is the presence of microorganisms capable not only of catabolic degradation of pollutants, but also having a number of other properties confirming their biotechnological and adaptive potential. The ability of a natural environment contaminated with harmful substances to self-cleanse is still a mystery to the world of science. During long-term contamination and self-progressing natural bioremediation, the soil becomes richly populated by spontaneous ruderal vegetation. The rhizosphere and endorhizosphere of these plants is a unique habitat for various bacteria and fungi with high biotechnological potential. Both microorganisms and plants adapting to growth in contaminated conditions can develop a number of defense mechanisms. Relict vegetation is also characterized by great genetic, physiological and metabolomic diversity. Plants adapted to grow in a polluted area may have (or develop) unique characteristics. The main objective of the project is to explain the role of ruderal vegetation, its rhizosphere, endorhizosphere, autochthonous microorganisms and bacteriophages in the processes of natural, spontaneous bioremediation of soils that have been polluted for many years. The specific objectives of the project include: explaining how relict plants activate and develop their adaptation and defense mechanisms; defining the role and explaining the adaptive mechanisms of microorganisms and bacteriophages in the processes of long-term natural bioremediation. Both soils and plants will be collected from under crude oil extractors in the historic Oil Mine in Węglówka. These areas have been heavily polluted and degraded (over 100 years of pollution). Nevertheless, from the closure of the mine to the present, crude oil has continued to flow spontaneously from oil wells. The constant flow of crude oil causes permanent pollution of the area while spontaneous, natural remediation is progressing. The area is also richly covered with relict vegetation. Soil samples will be collected from selected 9 oldest oil wells. 5 species of ruderal plants will be selected for research. DNA will be extracted directly from the soil, rhizosphere and endorhizosphere. Isolation and characterization of bacterial and fungal strains isolated from the rhizosphere and endorhizosphere of ruderal plants will be performed. The strains will be assessed on the basis of morphological, biochemical and genetic tests. The following will be determined: functional diversity using the Biolog system, next generation sequencing (NGS) of variable regions (16S rRNA for bacteria and ITS for fungi) and viral NGS (Shotgun sequencing). In addition, the chemical parameters of plant and soil samples (Corg, Nmin,  $\Sigma$ 16 PAHs and trace elements) will be determined. In the plant material, the following will be assessed: biological activity of selected secondary metabolites, accumulation of photosynthetic pigments, functioning of the

photosynthetic apparatus, determination of the metabolomic profile and the content of phenolic compounds. In addition to plants selected from contaminated areas, control plants (taken from uncontaminated areas) will be used for testing.

This project will be one of the first attempts at such extensive identification of the impact of long-term soil contamination on physicochemical and biological properties, as well as the assessment of soil and plant biodiversity in conjunction with the profiling of bacteria, fungi and bacteriophages. The new knowledge generated by the project will perfectly fill the biodiversity assessment gap regarding the still undiscovered biological and molecular characteristics of oil-contaminated soils and plants. In addition, this project will be the first such detailed approach to elucidate the interactions between the microbiome, mycobiome and metavirome of the rhizosphere and endorhizosphere of ruderal plants and their participation in bioremediation processes.

*The research was is part of the project: NCN 2022/45/B/NZ8/02398 “The interaction between the microbiome, mycobiome and metavirion of the rhizosphere and endorhiosphere of ruderal plants and their role in the passive and active remediation of heavily degraded soils and long-term oil pollution” (2023–2027).*

## Aktywność mikrobiologiczna grzybów pod drzewami jako wskaźnik potencjalnego wietrzenia biologicznego i glebotwórczego

**A. Gałazka<sup>1</sup>, A. Marzec-Grządziel<sup>1</sup>, Ł. Pawlik<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24–100 Puławy

<sup>2</sup> Instytut Nauk o Ziemi 41–200 Sosnowiec, ul. Będzińska 60, Uniwersytet Śląski  
e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl

*Słowa kluczowe: profil metaboliczny, mikrobiom i mykobiom gleb, wietrzenie gleb*

Rośliny lądowe pełnią rolę inżynierów ekosystemów, modyfikując przepływ energii i materii oraz tworząc nowe siedliska dla innych organizmów. Ta istotna koncepcja obejmuje również wpływ roślin na ukształtowanie terenu i gleby, kluczowe elementy krajobrazów leśnych na całym świecie. W niniejszym badaniu badamy, w jaki sposób drzewa poprzez swoje korzenie i organizmy symbiotyczne wpływają na procesy wietrzenia gleby.

Celem badania była odpowiedź na jedno z najważniejszych pytań w naukach o Ziemi: w jaki sposób czynniki biologiczne, w tym grzyby, działające na krytycznym styku między biosferą a środowiskiem abiotycznym, kształtują glebę i ewolucję krajobrazu? W ramach niniejszej pracy stawiamy pytanie, jaki jest poziom aktywności grzybów w systemach korzeniowych drzew i jak może ona wpływać na wietrzenie biologiczne. Obszarem zainteresowania jest przełom Popradu w południowej części Beskidu Sądeckiego, Zewnętrzne Karpaty Zachodnie. Zastosowaliśmy następujące analizy: 1) określenie zróżnicowania strukturalnego grzybów (ITS1) oraz 2) ocenę profilu metabolicznego gleb (Biolog FFPlates).

Najwyższą średnią liczbę sklasyfikowanych rodzajów stanowiły grzyby pełniące jednocześnie funkcje patotroficzne, saprotroficzne i symbiotroficzne. Borowiki, Agaricales, Cantharellales i Archaeorhizomycetales były najliczniejszymi rzędami, ale w jednej próbkę znaleźliśmy również szczególnie wysoki odsetek rzędu Mortierellales. Rząd Boletaceae i jego rodzina Boletaceae były istotnie wzbogacone w próbkach spękań skalnych, podczas gdy największą liczebność taksonów stwierdzono w próbkach referencyjnych. Najczęściej wykorzystywanymi substratami przez grzyby były: kwasy glicylo-L-glutaminowy, L-ornityna, L-fenyloalanina, L-prolina, kwas D-galakturonowy, kwasy fumarowe, kwasy D-sacharydowe, kwasy bursztynowe oraz N-acetylo-D-glukozamina. Nasze badanie potwierdziły, że społeczność grzybów w strefie korzeniowej jest aktywna geochemicznie, a kwasy organiczne wydzielane przez korzenie roślin w warunkach oligotroficznym i ograniczeniach składników pokarmowych znacząco wpływają na wietrzenie gleby.

*Badania przeprowadzono w ramach realizacji projektu: NCN 2019/33/B/ST10/01009 “Trees-BEEs – Drzewa jako biogeomorfologiczny czynnik przemiany ekosystemów – wietrzenie biologiczne, inicjalny rozwój gleb i formowanie rzeźby stoku pod wpływem korzeni drzew, bakterii ryzosferowych i grzybów mikoryzowych” (2019–2024).*



## Fungal activity under trees as an indicator of potential biological weathering and soil formation

**A. Gałazka<sup>1</sup>, A. Marzec-Grządziel<sup>1</sup>, Ł. Pawlik<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Department of Agricultural Microbiology, Department of Soil Erosion and Soil Protection, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Czartoryskich 8 Street, 24–100 Pulawy

<sup>2</sup> Institute of Earth Sciences 41–200 Sosnowiec, ul. Będzińska 60, University of Silesia  
e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl

*Keywords: metabolic profile, soil microbiome and mycobiome, bioweathering*

Terrestrial plants act as ecosystem engineers modifying the flow of energy and matter and creating new habitats for other organisms. This vital concept also encompasses plants' effects on landforms and soils, crucial components of forested landscapes worldwide. In the present study, we investigate how trees through their roots and symbiotic organisms influence soil-weathering processes.

The aim of the study was to answer one of the big questions in Earth sciences: how do biological agents, including fungi, acting at the critical interface between the biosphere and the abiotic environment, shape soil and landscape evolution? Within the present study we ask what is the level of fungal activity within root systems of trees and how can it influence biological weathering. The area of interest is in the Poprad River gorge in the southern part of the Sącz Beskid Mountains, the Outer Western Carpathians. We applied the following analyses: 1) determination of the structural diversity of fungi (ITS1) and 2) assessment of the metabolic profile of soils (Biolog FFPlates).

The highest average number of classified genera were fungi which simultaneously carried out pathotrophic, saprotrophic and symbiotrophic functions. Boletales, Agaricales, Cantharellales and Archaeorhizomycetales were the most abundant orders, but in one sample we also found a particularly high proportion of the order Mortierellales. The order Boletales and its family Boletaceae were significantly enriched in rock crack samples, whereas the highest number of differentially abundant taxa was observed in reference samples. The most frequently utilised substrates by fungi were: glycyl-L-glutamic acids, L-ornithine, L-phenylalanine, L-proline, D-galacturonic acid, fumaric acids, D-saccharic acids, succinic acids and N-acetyl-D-glucosamine. Our study demonstrates that the fungal community in the root zone is geochemically active and the organic acids secreted by plant roots in oligotrophic conditions and nutrient limitations significantly affect soil weathering.

*The research was carried out as part of the implementation of the project: NCN 2019/33/B/ST10/01009 “TreesBEEs – Trees as a biogeomorphological factor of ecosystem transformation – biological weathering, initial soil development and slope formation under the influence of tree roots, rhizosphere bacteria and mycorrhizal fungi” (2019–2024).*

## Wpływ zanieczyszczenia solą drogową na zooplankton w miejskich zbiornikach wodnych

**A. Górecka<sup>1</sup>, S. Szklarek<sup>2</sup>, A. Wojtal-Frankiewicz<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

<sup>2</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Tylna 3, 90–364 Łódź

<sup>3</sup> Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16 90–237 Łódź

e-mail: [aleksandra.gorecka@edu.uni.lodz.pl](mailto:aleksandra.gorecka@edu.uni.lodz.pl)

*Słowa kluczowe: wioślarki, wrotki, widłonogi, sól drogową*

Sól drogową stała się powszechnie używanym środkiem do odładzania dróg ze względu na swoją szeroką dostępność, przystępny koszt i skuteczność. Jednakże, jej stosowanie niesie ze sobą konsekwencje dla środowiska naturalnego, w tym ekosystemów słodkowodnych. Podwyższone stężenia jonów sodu oraz jonów chlorkowych w wodach mogą mieć negatywny wpływ na zooplankton – kluczowe ogniwo słodkowodnych sieci troficznych.

Wcześniejsze badania laboratoryjne pokazały, że podwyższone stężenia chlorków mogą mieć negatywny wpływ na różne grupy zooplanktonu, jednakże niewiele badań porusza temat wpływu soli drogowej na zooplankton w naturalnym środowisku. Celem badań było przeanalizowanie zależności pomiędzy stężeniami jonów chlorkowych i sodu oraz zagęszczeniem zooplanktonu w czterech miejskich zbiornikach wodnych zlokalizowanych w Łodzi, podczas trzech lat, różniących się pogodowo (2019 – 2021).

Teren badań stanowiły cztery miejskie zbiorniki wodne: Arturówek Górny (zbiornik referencyjny), Zbiornik Wasiaka, Zbiornik Julianów Górny oraz Zbiornik Zgierska. Badania prowadzono w latach 2019 (przebieg zima), 2020 (łagodna zima) i 2021 (surowa zima). W pobranych z terenu próbach wody powierzchniowej i wody porowej zbadano zawartość jonów chlorkowych i sodu za pomocą chromatografii jonowej. Zooplankton pobierany był w sezonach wegetacyjnych za pomocą siatki zooplanktonowej o wielkości oczek 50  $\mu\text{m}$ , następnie przeprowadzono analizę jakościową i ilościową zebranych organizmów.

Średnie stężenia jonów chlorkowych i sodu w wodzie powierzchniowej były najwyższe w roku 2021 z surową zimą (odpowiednio 424.26 mg/L and 119.83 mg/L), a najniższe w roku z łagodną zimą 2020 (61.76 mg/L  $\text{Cl}^-$  and 25.95 mg/L  $\text{Na}^+$ ). Ponadto, w roku z surową zimą stężenia chlorków sięgające chronicznego limitu toksyczności 120 mg/L utrzymywały się w wodzie powierzchniowej i porowej do lata. Analizy PCA wykonane dla próbek wody powierzchniowej i porowej w trzech zbiornikach narażonych na wysokie stężenia chlorków wskazały, że całkowite zagęszczenie zooplanktonu, a także zagęszczenie poszczególnych grup zooplanktonu były negatywnie skorelowane ze stężeniami jonów chlorkowych i sodu. Wrażliwość poszczególnych grup zooplanktonu różniła się – wrotki były organizmami najbardziej odpornymi na zasolenie, natomiast wioślarki i widłonogi były najbardziej wrażliwe.

*Badania zrealizowano w ramach projektu nr 2018/28/C/NZ8/00235 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu SONATINA2 pt. „Wpływ zimowego zanieczyszczenia solą drogową na sukces wylęgu zooplanktonu z jaj przetrwalnikowych.”*



## Effects of road salt pollution on zooplankton in urban water bodies

**A. Górecka<sup>1</sup>, S. Szklarek<sup>2</sup>, A. Wojtal-Frankiewicz<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

<sup>2</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Tylna 3, 90–364 Łódź

<sup>3</sup> Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16 90–237 Łódź

e-mail: [aleksandra.gorecka@edu.uni.lodz.pl](mailto:aleksandra.gorecka@edu.uni.lodz.pl)

*Keywords: cladocerans, rotifers, copepods, road salt*

Road salt has become a widely used de-icing agent for roads due to its wide availability, affordability and effectiveness. However, its use has consequences for the environment, including freshwater ecosystems. Elevated concentrations of sodium and chloride ions in waters can have a negative impact on zooplankton – a key component of freshwater trophic networks.

Previous laboratory studies have shown that elevated chloride concentrations can have negative effects on different groups of zooplankton, but few studies have addressed the effects of road salt on zooplankton in the natural environment. The aim of this study was to analyse the relationship between chloride and sodium ion concentrations and zooplankton density in four urban water bodies located in Łódź, during three years with different weather conditions (2019–2021).

The study area consisted of four urban water reservoirs: the Arturówek Upper (reference reservoir), the Wasiak Reservoir, the Julianów Upper and the Zgierska Reservoir. The studies were conducted in 2019 (average winter), 2020 (mild winter) and 2021 (cold winter). The surface water and pore water samples collected from the sites were analysed for chloride and sodium ions using ion chromatography. Zooplankton were collected during the growing seasons using a zooplankton net with a mesh size of 50 µm, followed by qualitative and quantitative analysis of the collected organisms.

The average concentrations of chloride and sodium ions in the surface water were highest in the year 2021 with a cold winter (424.26 mg/L and 119.83 mg/L, respectively), and the lowest in the year with a mild winter in 2020 (61.76 mg/L Cl<sup>-</sup> and 25.95 mg/L Na<sup>+</sup>). Furthermore, in the year with the cold winter, chloride concentrations reaching the chronic toxicity limit of 120 mg/L persisted in surface and pore water into the summer. PCA analyses performed for surface and pore water samples in the three reservoirs exposed to high chloride concentrations indicated that total zooplankton density, as well as the density of individual zooplankton groups, were negatively correlated with chloride and sodium ion concentrations. The sensitivity of individual zooplankton groups differed, with rotifers being the organisms most resistant to salinity, while cladocerans and copepods were the most sensitive.

*Study was supported by grant No. 2018/28/C/NZ8/00235, “Impact of road salt pollution in winter on zooplankton hatching success from resting eggs.” Funded by the National Science Center (Poland).*



## Ocena wrażliwości środowiskowych szczepów *Microcystis aeruginosa* i *Aphanizomenon gracile* na bakterie algobójcze – opracowanie rozwiązań biotechnologicznych dla ekologii

**T. Grzyb<sup>1,2</sup>, A. Font-Nájera<sup>2</sup>, J. Morón-López<sup>2</sup>, M. Kokociński<sup>3</sup>, J. Mankiewicz-Boczek<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237, Łódź

<sup>2</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii, Polska Akademia Nauk, ul. Tylna 3, 90–364, Łódź

<sup>3</sup> Zakład Hydrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61–614, Poznań  
e-mail: tomasz.grzyb@edu.uni.lodz.pl

*Słowa kluczowe:* cyjanobakterie, zakwity sinicowe, bakterie algobójcze, rozwiązania bliskie naturze, *psbA*, *recA*

Cyjanobakterie, jedyne bakterie przeprowadzające fotosyntezę oksygeniczną, występują w większości środowisk wodnych i lądowych. Ze względu na postępującą antropopresję i eutrofizację wód, obserwuje się obecnie globalny wzrost zasięgu geograficznego, częstotliwości oraz czasu trwania sinicowych zakwitów wód. Jest to zjawisko szkodliwe dla ekosystemów wodnych, jako że zakwity sinicowe blokują dostęp światła, a na skutek ich starzenia się i rozkładu dochodzi do hipoksji lub anoksji zbiorników. Są też zagrożeniem dla zwierząt (w tym człowieka), jako że sinice produkują szereg toksyn (cyjanotoksyn). Ponadto, stanowią zagrożenie dla zasobów wodnych oraz usług ekosystemowych. Do rozwoju zakwitów sinicowych przyczynia się też globalna zmiana klimatu (rosnące średnia temperatura oraz stężenie CO<sub>2</sub> stymulują wzrost sinic); one same mogą z kolei stanowić źródło emisji gazów cieplarnianych.

Dlatego też poszukuje się efektywnych metod kontroli zakwitów sinicowych. Szczególnym zainteresowaniem, w ramach modelu rozwiązań bliskich naturze, cieszą się metody biologiczne, a wśród nich – wykorzystanie bakterii algobójczych. Heterotroficzne bakterie współlistnieją i oddziałują z cyjanobakteriami w zakwitach, a ich zależności antagonistyczne mogą być efektywnym źródłem kontroli liczebności cyjanobakterii.

Znaczna większość badań na powyższy temat dotyczy *Microcystis* spp. – jednego z najbardziej rozprzestrzenionych i uciążliwych w kontroli rodzajów sinic w wodach słodkich. Sinice te są zdolne do produkcji hepatotoksyn – mikrocytyn. Tym niemniej, *Microcystis* spp. często współlistnieją w zakwitach z filamentowymi sinicami wiążącymi azot (tj. diazotroficznymi), takimi jak *Aphanizomenon* spp. Zakwity sinic niewiążących azotu (takich jak *Microcystis* spp.) bywają też poprzedzane zakwitami sinic wiążących azot (takich jak *Aphanizomenon* spp.). Cyjanobakterie z rodzaju *Aphanizomenon* są ponadto potencjalnymi producentami szeregu cyjanotoksyn, takich jak cylindrospermopsyna (cytotoksyna), anatoksyna-a (neurotoksyna), saksitoksyny (neurotoksyny) czy mikrocytyny (hepatotoksyny).

W ramach prezentowanych badań zbadano wpływ dwóch potencjalnie algobójczych szczepów bakterii wyizolowanych ze Zbiornika Sulejowskiego – *Bacillus pumilus* SU8S0818 (*Firmicutes*) oraz *Morganella morgani* SU7S0818 (*Gammaproteobacteria*) – na dwa środowiskowe szczepy sinicowe: *Microcystis aeruginosa* PN (wyizolowany z Jeziora Pniewskiego) oraz *Aphanizomenon gracile* WIT (wyizolowany z Jeziora Witobelskiego). Po sześciu dniach współhodowli, stosując metodę określania liczebności komórek opartą na mikroskopii fluorescencyjnej, zaobserwowano spadek liczebności we wszystkich kombinacjach (wskaźnik algicydowy

wyniósł > 98%). Jednocześnie, wykorzystując technikę RT-qPCR oraz metodę obliczeniową  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , badano zmiany ekspresji genów markerowych reakcji stresowej po 6, 12, 24 i 30 godzinach trwania eksperymentu. Za geny markerowe reakcji stresowej obrano *psbA* oraz *recA*. Gen *psbA* odpowiada za syntezę białka D1, białka rdzeniowego fotoukładu II (PSII), które jest szczególnie narażone na fotouszkodzenia i w optymalnych warunkach podlega cyklicznej wymianie w ramach tzw. cyklu naprawy PSII. Białko RecA (kodowane przez gen *recA*) bierze udział w systemie naprawy uszkodzeń DNA. Zaobserwowano znaczące zmiany w ekspresji ww. genów względem kontroli – zarówno nadekspresję, jak i obniżoną ekspresję, zależnie od czasu i rodzaju szczepów.

Przeprowadzone badania potwierdzają algobójcze właściwości i aplikacyjny potencjał *Bacillus pumilus* SU8S0818 i *Morganella morganii* SU7S0818 zarówno wobec *Microcystis aeruginosa* PN, jak i *Aphanizomenon gracile* WIT. Jednocześnie zmiany w ekspresji genów związanych z funkcjonowaniem aparatu fotosyntetycznego oraz systemu naprawy uszkodzeń DNA sugerują potencjalne mechanizmy fizjologiczne stojące za działaniem algicydowym.

*Badania finansowane z projektu „Izolacja, identyfikacja i charakterystyka bakterii algicydowych jako potencjalnego czynnika kontrolującego występowanie toksycznych sinicowych zakwitów wód słodkich” ALGICYDY, NCN, 2019/33/B/NZ8/02093.*



## Assessing the sensitivity of environmental *Microcystis aeruginosa* and *Aphanizomenon gracile* strains to algicidal bacteria – developing biotechnological solutions for ecology

**T. Grzyb<sup>1,2</sup>, A. Font-Nájera<sup>2</sup>, J. Morón-López<sup>2</sup>, M. Kokociński<sup>3</sup>, J. Mankiewicz-Boczek<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> UNESCO Chair on on Hydrology and Applied Ecology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, Banacha 12/16, 90–237, Łódź

<sup>2</sup> European Regional Centre for Ecohydrology of the Polish Academy of Sciences, Tylna 3, 90–364, Łódź

<sup>3</sup> Department of Hydrobiology, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University, Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61–614, Poznań  
e-mail: tomasz.grzyb@edu.uni.lodz.pl

*Keywords: cyanobacteria, blooms, algicidal bacteria, nature-based solutions, psbA, recA*

Cyanobacteria are the only bacteria capable of oxygenic photosynthesis and are found in most aquatic and terrestrial environments. Due to increasing anthropopressure and water eutrophication, there is a global increase in the geographical extent, frequency and duration of cyanobacterial harmful algae blooms (CyanoHABs). This phenomenon is detrimental to aquatic ecosystems as blooms block access to light and cause hypoxia or anoxia when bloom ages and decomposes. They are also harmful for animals (including humans) due to the variety of toxins (cyanotoxins) they produce. In addition, they pose a threat to water resources and ecosystem services. Global climate change is also contributing to the development of cyanobacterial blooms as a result of increasing average temperatures and CO<sub>2</sub> supply, and cyanobacterial blooms may in turn be a source of greenhouse gas emissions.

Therefore, effective methods are being sought to control cyanobacterial bloom outbreaks. Biological methods are of particular interest, within the framework of Nature-Based Solutions (NBS), and among these is the use of algicidal bacteria. Heterotrophic bacteria coexist and interact with cyanobacteria in blooms, and their antagonistic relationships could be used as an effective source for controlling cyanobacterial abundance.

The vast majority of studies on this subject concern *Microcystis* spp. – one of the most pervasive and disruptive genera of cyanobacterial blooms in freshwater. These cyanobacteria are capable of producing hepatotoxins – microcystins. Nevertheless, *Microcystis* spp. often coexist in blooms with filamentous nitrogen-fixing (i.e., diazotrophic) cyanobacteria such as *Aphanizomenon* spp. Blooms of non-diazotrophic cyanobacteria (such as *Microcystis* spp.) are also sometimes preceded by blooms of diazotrophic cyanobacteria (such as *Aphanizomenon* spp.). Cyanobacteria of the genus *Aphanizomenon* are furthermore potential producers of several cyanotoxins, such as cylindrospermopsin (cytotoxin), anatoxin-a (neurotoxin), saxitoxins (neurotoxins) or microcystins (hepatotoxins).

In the present study, the effect of two potentially algicidal bacterial strains isolated from Sulejów Reservoir, i.e., *Bacillus pumilus* SU8S0818 (*Firmicutes*) and *Morganella morganii* SU7S0818 (*Gammaproteobacteria*), was investigated on two environmental cyanobacterial strains: *Microcystis aeruginosa* PN (isolated from Lake Pniewskie) and *Aphanizomenon gracile* WIT (isolated from Lake Witobelskie). Over six days of co-culture, using a method of determining cell abundance based on fluorescence microscopy, a decrease in abundance was observed in all combinations (the algicide ratio was >98%). At the same time, using RT-qPCR

and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  computational method, changes in the expression of stress marker genes were studied after 6, 12, 24 and 30 hours of the experiment. The selected stress marker genes were *psbA* and *recA*. The *psbA* gene is responsible for the synthesis of D1 protein, a core photosystem II (PSII) protein, which is particularly vulnerable to photodamage and under optimal conditions is cyclically exchanged within the PSII repair cycle. RecA protein (encoded by *recA*) is involved in DNA damage repair system. Significant changes in the expression of these genes were observed in relation to control samples – both overexpression and underexpression, depending on time and strain type.

The study confirms the algicidal properties and application potential of *Bacillus pumilus* SU8S0818 and *Morganella morganii* SU7S0818 against both *Microcystis aeruginosa* PN and *Aphanizomenon gracile* WIT. At the same time, changes in the expression of genes related to the function of the photosynthetic and DNA repair systems suggest potential physiological mechanisms behind the algicidal activity.

*Research funded: National Science Centre 2019/33/B/NZ8/02093 ALGICYDY, "Isolation, identification and characterisation of algicidal bacteria as a potential factor controlling the occurrence of freshwater toxic cyanobacterial blooms".*

## Mikrobiologiczna degradacja oksybenzonu

**M. Krupiński, Ż. Podrażka**

*Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,  
Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90–237 Łódź  
e-mail: mariusz.krupinski@biol.uni.lodz.pl*

*Słowa kluczowe: ciecze jonowe, biodegradacja, toksyczność*

Oksybenzon (benzofenon-3, BP-3) należy do grupy ketonów aromatycznych nazywanych benzofenonami. Stanowi jeden z najbardziej aktywnych składników przeciwsłonecznych, które posiadają szerokie spektrum działania zarówno przeciwko promieniowaniu UVA jak i UVB. Dlatego też, związek ten jest masowo wykorzystywany w produktach przeznaczonych do zapobiegania poparzeniom słonecznym ale także do ochrony przed fotodynamicznymi, fotouczulającymi i fototoksycznymi działaniami różnych leków. Wykazano jednak, że oksybenzon poza właściwościami protekcyjnymi może wywierać negatywny wpływ na organizmy żywe poprzez zaburzenie funkcjonowania układu endokrynnego.

Jednym z głównych źródeł przenikania oksybenzonu do środowiska jest bezpośrednie stosowanie produktów kosmetycznych m.in. kremów z filtrami UV, w których związek ten stanowi główny składnik. Negatywne efekty oddziaływania BP-3 na organizmy, zwłaszcza człowieka pozostają wciąż obiektem intensywnych badań. Wykazano m.in., że stosowanie preparatów przeciwsłonecznych z oksybenzonem może powodować zapalenie skóry i zwiększa ryzyko wystąpienia alergii. Toksyczność ksenobiotyku została również zaobserwowana w stosunku do wielu organizmów bioindykatorowych np. *Daphnia magna*, *Oryzias latipes* czy *Oncorhynchus mykiss*.

Ze względu na wzrastające zanieczyszczenie środowiska naturalnego oksybenzonem, coraz więcej uwagi poświęca się poszukiwaniem efektywnych metod eliminacji i rozkładu ksenobiotyku zwłaszcza przy wykorzystaniu drobnoustrojów.

Celem niniejszej pracy było określenie zdolności wybranych szczepów drobnoustrojów do eliminacji i degradacji oksybenzonu ze środowiska wzrostu oraz identyfikacja pośrednich produktów rozkładu BP-3. Badania zmierzały także do oceny zmiany toksyczności środowiska w procesach mikrobiologicznego rozkładu ksenobiotyku z wykorzystaniem testów bioindykatorowych.

Wyniki z rozdziału ekstraktów pochodzących metodą GC-MS wykazały, że szczep grzybowy *Umbelopsis isballina* charakteryzował się najwyższą efektywnością w usuwaniu oksybenzonu z podłoża wzrostowego. Zaobserwowano ponad 90 % redukcję ilości ksenobiotyku w hodowlach grzybowych po 3 dniach inkubacji w układach z 10 i 25 mg/L ksenobiotyku. W analizowanych hodowlach zidentyfikowano dwa produkty biodegradacji oksybenzonu: 2,4 dihydroksybenzofenon oraz kwas 2,4 dihydroksybenzoowy. Struktura produktów pośrednich rozkładu BP-3 sugeruje, że w początkowej fazie degradacji związku dochodzi do demetylacji jego cząsteczki a następnie rozerwania wiązania w mostku tlenowym łączącym pierścienie aromatyczne.

Ocenę profilu zmiany toksyczności hodowli w czasie inkubacji z oksybenzonem przeprowadzono z użyciem biotestów wykorzystujących jako bioindykatory organizmy reprezentujące wszystkie poziomy łańcucha troficznego. Wyniki biotestów z zastosowaniem skorupiaków *Artemia franciscana* wykazały spadek toksyczności układów hodowlanych w trakcie eliminacji oksybenzonu przez szczep *U. isabellina*. Spadek toksycznego charakteru przesączy pochodzących zaobserwowano także w teście MARA wykorzystującego jako organizmy wskaźnikowe 11 szczepów drobnoustrojów.

Otrzymane rezultaty badań wskazują, że szczep *U. isabellina* może być obiecującym narzędziem w procesach bioremediacji środowisk zanieczyszczonych oksybenzonem jak również dogodnym modelem w badaniach nad mechanizmami rozkładu ksenobiotyków.

## Microbiological degradation of oxybenzone

M. Krupiński, Ż. Podrażka

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, Banacha 12/16. 90–237 Lodz, Poland  
e-mail: mariusz.krupinski@biol.uni.lodz.pl

*Keywords:* ionic liquids, biodegradation, toxicity

Oxybenzone (benzophenone-3, BP-3) belongs to the group of aromatic ketones called benzophenones. It is one of the most active sunscreen ingredients that has a broad spectrum of activity against both UVA and UVB radiation. Therefore, this compound is widely used in products intended to prevent sunburn, but also to protect against photodynamic, photosensitizing and phototoxic effects of various drugs. However, it has been shown that oxybenzone, apart from its protective properties, may have a negative impact on living organisms by disrupting the functioning of the endocrine system.

One of the main sources of oxybenzone penetration into the environment is the direct use of cosmetic products, e.g. creams with UV filters, in which this compound is the main ingredient. The negative effects of BP-3 on organisms, especially humans, are still the subject of intensive research. It has been shown, among others, that the use of sunscreens with oxybenzone can cause dermatitis and increase the risk of allergies. The toxicity of the xenobiotic has also been observed in relation to many bioindicator organisms, e.g. *Daphnia magna*, *Oryzias latipes* or *Oncorhynchus mykiss*.

Due to the increasing pollution of the natural environment with oxybenzone, more and more attention is paid to the search for effective methods of elimination and decomposition of the xenobiotic, especially with the use of microorganisms.

The aim of this study was to determine the ability of selected microbial strains to eliminate and degrade oxybenzone from the growth environment and to identify intermediate products of BP-3 degradation. The research also aimed at assessing changes in environmental toxicity in the processes of microbiological decomposition of xenobiotics using bioindicator tests.

The results of the separation of post-culture extracts by the GC-MS method showed that the *Umbelopsis isballina* fungal strain was characterized by the highest efficiency in removing oxybenzone from the growth medium. Over 90% reduction in the amount of xenobiotic in fungal cultures after 3 days of incubation in cultures with 10 and 25 mg/L of xenobiotic was observed. Two products of oxybenzone biodegradation were identified in the analyzed cultures: 2,4 dihydroxybenzophenone and 2,4 dihydroxybenzoic acid. The structure of intermediate products of BP-3 decomposition suggests that in the initial phase of degradation of the compound, its molecule is demethylated and then the bond in the oxygen bridge connecting the aromatic rings is broken.

The assessment of the profile of changes in the toxicity of cultures during incubation with oxybenzone was carried out using biotests using organisms representing all levels of the trophic chain as bioindicators. The results of biotests using *Artemia franciscana* crustaceans showed a decrease in the toxicity of cultures during the elimination of oxybenzone by *U. isabellina* strain. A decrease in the toxic character of the culture filtrates was also observed in the MARA test using 11 strains of microorganisms as indicator organisms.

The obtained research results indicate that the *U. isabellina* strain may be a promising tool in the bioremediation processes of environments contaminated with oxybenzone, as well as a convenient model in research on the mechanisms of xenobiotic degradation.



## Ocena właściwości przechowywanych odchodów ptasich po zastosowaniu wybranych kompozycji mikrobiologicznych w celu ograniczenia strat składników biogennych oraz kondycjonowania pomiotu z przemysłowych ferm zwierzęcych

J. M. Kupiec

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Ekologii i Ochrony Środowiska, ul. Piątkowska 94C, 60-649 Poznań

Słowa kluczowe: pomiot ptasi, kondycjonowanie obornika, gazy odorowe, amoniak, cyjanowodór, kwasy humusowe

Celem badania była ocena parametrów krytycznych, mogących modyfikować natężenie i tendencję zmian fizycznych, chemicznych i biologicznych z przechowywanych przyzmy pomiotu, pochodzącego z intensywnych ferm hodowlanych. Prace badawcze miały na celu przetestowanie kompozycji mikrobiologicznej z bakteriami kondycjonującymi (*Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* oraz *Pediococcus* sp.) oraz bakteriami denitryfikacyjnymi (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus licheniformis*), zastosowanymi w formie kapsułek twardych (susz bakteryjny). Badania były prowadzone w kontekście ograniczania odpływu biogenów do wód z przechowywanej masy pomiotu ptasiego. Oceniono również wpływ kompozycji na kondycjonowanie odchodów ptasich. Doświadczenie zostało przeprowadzone w warunkach *in situ* z wykorzystaniem specjalnie przygotowanych kolumn z komorami statycznymi w pierwszej połowie 2021 r. Badania obejmowały analizę obecności gazów odorowych i szklarniowych – pomiary stężenia metanu, amoniaku, dwutlenku węgla, tlenu oraz siarkowodoru. Dokonano również analiz identyfikacji gazowych homologów (etan, propan, i-butan, n-butan) oraz gazowych alkenów (etylen, propylen, 1-buten) metanu. Dodatkowo przebadano próbki na obecność cyjanowodoru.

Eksperyment obejmował analizy na wytypowanej kompozycji mikrobiologicznej w formie kapsułek twardych dodanej do masy pomiotu. Wykonane badania objęły analizy chemiczne na zawartość makroskładników biogennych – azotu i fosforu (formy ogólne i jonowe: jony amonowe, jony azotanowe, jony azotynowe, azot ogólny, jony fosforanowe, fosfor ogólny) w pomiole oraz w odciekach. Dodatkowo przeprowadzono analizy fizyko-chemiczne opadów (pH, przewodność, azot ogólny), gdyż przyzmy obornika, nawet jeśli są przechowywane na płytach żelbetonowych, nie posiadają zadaszenia, a więc są narażone na infiltrację wód opadowych, które mogą zmieniać chemizm przyzmy.

Dla oceny wartości pomiotu oraz wpływu kompozycji mikrobiologicznej na proces kondycjonowania obornika przeprowadzono również badania właściwości próchnico-twórczych pomiotu. Analizowano dwie frakcje kwasów – huminowe oraz fulwowe. Oprócz substancji humusowych badano obecność w pomiole bakterii kwasu mlekowego oraz drobnoustrojów szkodliwych dla procesu fermentacji – bakterii z rodzaju *Clostridium* i *Bacillus*. Przeprowadzono również analizy ilościowe na obecność *E. Coli* w odcieku z pomiotu. Ponieważ na przebieg procesów mikrobiologicznych mogą mieć wpływ substancje farmakologiczne stosowane na fermach, przeprowadzono również analizy na obecność tego typu substancji oraz dodatkowo hormonów w pomiole.

Spośród uzyskanych wyników warto zaakcentować to, że w badanych próbach nie wykryto obecności gazowych homologów metanu oraz gazowych alkenów. W badanej próbce stwierdzono metan, natomiast jego ilość nie przekraczała 2,5%. Niepokojąco wysoki był również poziom cyjanowodoru w badanych próbach gazów w pobranej próbce z komory statycznej. Jego udział w objętości badanej próbki powietrza był niekiedy ponad dwa razy wyższy niż w przypadku amoniaku. Uzyskane wyniki wskazują na wzrost udziału substancji humusowych (SH) i kwasów huminowych (KH) w kolumnach, w których zastosowano szczepy mikroorganizmów kondycjonujących pomiot w stosunku do kontroli. W analizowanym pomiole indyczym i kurzym wykryto łącznie 28 substancji farmakologicznych i dwa hormony.

*Badania finansowane z Projektu badawczo-rozwojowego nr RPW M.01.02.01-28-0020/19-00 (2020–2023 r.) w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Warmińsko-Mazurskiego na lata 2014–2020 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego pt. “Prace B+R w celu wypracowania stabilnej i efektywnej kompozycji mikrobiologicznej ograniczającej dopływ biogenów do wód i kondycjonującej obornik”.*

## **Evaluation of the properties of stored poultry manure after the use of selected microbiological compositions to reduce the loss of nutrients and to condition manure from industrial animal farms**

**J. M. Kupiec**

*Poznań University of Life Sciences, Department of Ecology and Environmental Protection, Piątkowska 94C, 60-649 Poznań*

*Keywords: bird manure, manure conditioning, odour gases, ammonia, hydrogen cyanide, humic acids*

The aim of the study was to evaluate the critical parameters that may modify the intensity and tendency of physical, chemical and biological changes from stored heaps of manure from intensive breeding farms. The research work was aimed at testing the microbiological composition with conditioning bacteria (*Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus* sp.) and denitrifying bacteria (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus licheniformis*), used in the form of hard capsules (bacterial dried). The research was conducted in the context of limiting the outflow of nutrients to waters from the stored mass of bird manure. The effect of the composition on the conditioning of bird droppings was also assessed. The experiment was carried out *in situ* conditions using specially prepared columns with static chambers in the first half of 2021. The tests included an analysis of the presence of odour and greenhouse gases – measurements of the concentration of methane, ammonia, carbon dioxide, oxygen and hydrogen sulphide. Analyzes were also made to identify gaseous homologues (ethane, propane, i-butane, n-butane) and gaseous alkenes (ethylene, propylene, 1-butene) of methane. In addition, samples were tested for the presence of hydrogen cyanide.

The experiment included analyzes on selected microbiological compositions in the form of hard capsules added to the manure mass. The tests performed included chemical analyzes of the content of biogenic macronutrients – nitrogen and phosphorus (general and ionic forms: ammonium, nitrate, nitrite, total nitrogen, phosphate, total phosphorus) in manure and in leachates. In addition, physical and chemical analyzes of precipitation (pH, conductivity, total nitrogen) were carried out in order to determine the optimization, because manure heaps, even if they are stored on reinforced concrete slabs, do not have a roof, and therefore they are exposed to rainwater infiltration, which may change the heap chemistry .

In order to assess the value of the manure and the impact of the microbiological composition on the manure conditioning process, studies on the humus-forming properties of the manure were also carried out. Two fractions of acids were analyzed – humic and fulvic. In addition to humic substances, the presence of lactic acid bacteria and microorganisms harmful to the fermentation process – bacteria of the genus *Clostridium* and *Bacillus* – was examined. Quantitative analyzes for the presence of *E. coli* in manure effluent were also carried out. Since the course of microbiological processes may be affected by pharmacological substances used on farms, it is also necessary to carry out an analysis for the presence of such substances and, additionally, hormones in the manure.

Among the obtained results, it is worth emphasizing that the presence of gaseous methane homologues and gaseous alkenes was not detected in the tested samples. Methane was found in the tested samples, but its amount did not exceed 2.5%. The level of hydrogen cyanide in the tested gas samples in the sample taken from the static chamber was also alarmingly high. Its share in the volume of the tested air sample was sometimes more than twice as high as in the case of ammonia. The obtained results indicate an increase in the share of humic substances (HS) and humic acids (HA) in the columns in which the strains of manure conditioning microorganisms were used in relation to the control. A total of 28 pharmacological substances and two hormones were detected in the analyzed turkey and chicken manure.

*Research financed from the Research and Development Project No. RPW M.01.02.01-28-0020/19-00 (2020–2023) under the Regional Operational Program of the Warmian-Masurian Voivodeship for 2014–2020 co-financed by the European Regional Development Fund entitled “R&D works to develop a stable and effective microbiological composition limiting the inflow of nutrients to waters and conditioning manure”.*

## Włókniste elementy biodegradowalne modyfikowane cytrynianem trietylu

L. Madej-Kielbik<sup>1</sup>, A. Bednarowicz<sup>1,2</sup>, K. Gzyra-Jagiela<sup>1,2</sup>, S. Majchrzak<sup>1</sup>, D. Zielińska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sieć Badawcza ŁUKASIEWICZ – Łódzki Instytut Technologiczny, ul. Marii Skłodowskiej-Curie 19/27, 90–570 Łódź

<sup>2</sup> Politechnika Łódzka, Instytut Materiałoznawstwa Tekstyliów i Kompozytów Polimerowych ul. Żeromskiego 116, 90–924 Łódź  
e-mail: [anna.bednarowicz@lit.lukasiewicz.gov.pl](mailto:anna.bednarowicz@lit.lukasiewicz.gov.pl)

*Słowa kluczowe: biodegradowalne maseczki filtrujące, biodegradowalne środki ochrony indywidualnej, modyfikacja włóknin małowcząsteczkowym związkiem estrowym, biodegradacja włóknin*

Wykorzystanie polimerów biodegradowalnych do produkcji wyrobów jednorazowego użytku jest odpowiedzią na światowe trendy a jednocześnie sprzyja ograniczeniu kosztów utylizacji i składowania odpadów. Biodegradowalna włóknina pozwoliłaby na znaczne zmniejszenie szkodliwego wpływu stosowanych środków ochrony indywidualnej na środowisko i ekosystem, ponieważ najczęściej są one niewłaściwie zagospodarowane. Produkty te zanieczyszczają środowisko mikroplastikiem, który mimo małych rozmiarów jest bardzo niebezpiecznym zanieczyszczeniem. Dlatego też, biodegradowalne polimery np.: poli(kwas mlekowy), polihydroksy- maślan, chitozan, skrobia, celuloza, z każdym dniem zyskują nowe zastosowania w kluczowych gałęziach przemysłu tekstylnego, medycznego, opakowaniowego.

Celem pracy było podjęcie działań prowadzących do opracowania włóknistych elementów, które mogą być wykorzystane m.in. w ochronnej masce biodegradowalnej stanowiącej barierę dla patogenów chorobotwórczych, tak aby znaleźć alternatywę dla obecnie stosowanych w przemyśle materiałów polipropylenowych generujących duże ilości odpadów. W ramach pracy wytworzono włókninę melt-blown wykorzystując polimer Ingeo™ 6252 D (PLA) oraz 10% wag. cytrynianu trietylowego (TEC) oraz włókninę spun-bonded na bazie biopolimeru Ingeo™ 6202 D (PLA). Metoda melt-blown stanowi zintegrowaną technologię łączącą proces formowania włókien z procesem wytwarzania runa. Polega ona na rozdmuchiwaniu strumieniem gorącego sprężonego powietrza strużek stopionego polimeru wychodzących z głowicy wyciarkarki poprzez wielootworową dyszę i odbieraniu powstających włókienek w postaci uformowanego runa na urządzeniu odbierającym. Jednakże melt-blown wymaga wysokiej temperatury, ponieważ tylko wtedy można uzyskać cienkie włókna elementarne, co powoduje degradację polimeru. Proces ten powoduje degradację 34% PLA niemodyfikowanego i 29% PLA modyfikowanego cytrynianem trietylu. Włókna wytworzone w technologii melt-blown są drobne, ich średnica wynosi ok. 1–5  $\mu\text{m}$ , dlatego też wykorzystuje się przede wszystkim jako materiały flitujące. W technologii spun-bonded włókna mają znacznie większą średnicę ok. 20–30  $\mu\text{m}$ , co powoduje że są bardziej wytrzymałe i w konstrukcji włóknistej chronią delikatną włókninę melt-blown. Wytworzone włókniste elementy zbudowane z zewnętrznej warstwy włókniny spun-bonded i wewnętrznej melt-blown, poddano badaniom biologicznym, chemicznym, fizyko-mechanicznym oraz badaniom biodegradacji w kompoście.

Biodegradacji jest złożonym procesem zależnym od warunków środowiska, właściwości polimeru oraz mikroorganizmów. W wyniku ekstrakcji wodnej zaobserwowano znaczący spadek wartości pH ekstraktu z włókniny zawierającej TEC oraz wyższą wartość absorbancji. Również podczas biodegradacji możliwe jest uwalnianie się TEC z matrycy polimerowej, ponieważ wilgotność kompostu wynosi 40–60%, zmianie ulega również pH podłoża. Niższe wartości pH środowiska wpływają znacząco na mechanizm degradacji, w niższych warunkach pH zachodzi degradacja terminalnych części łańcuchów polimeru – depolimeryzacja, natomiast w wyższych następuje losowa degradacja wiązania estrowego. Potwierdza to również analiza GPC/SEC, ponieważ indeks polidispersyjności w trakcie biodegradacji nie ulega znaczącym zmianom, co może wskazywać na terminalną degradację polimeru. Po dwudziestu tygodniach biodegradacji elementów włóknistych zaobserwowano ubytek masy na poziomie 77,80 %. Na podstawie ubytku masy oraz zdjęć SEM zaobserwowano, że modyfikacja użytego biopolimeru za pomocą zastosowanego plastyfikatora przyspiesza proces biodegradacji wytworzonej ekologicznej maski ochronnej.

## Fibrous biodegradable elements modified with triethyl citrate

L. Madej-Kielbik<sup>1</sup>, A. Bednarowicz<sup>1,2</sup>, K. Gzyra-Jagiela<sup>1,2</sup>, S. Majchrzak<sup>1</sup>, D. Zielińska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ŁUKASIEWICZ Research Network – Łódź Institute of Technology, Marii Skłodowskiej-Curie 19/27 St., 90–570 Łódź

<sup>2</sup> Lodz University of Technology, Institute of Materials Science of Textiles and Polymer Composites, 116 Żeromskiego St., 90–924 Łódź  
e-mail: [anna.bednarowicz@lit.lukasiewicz.gov.pl](mailto:anna.bednarowicz@lit.lukasiewicz.gov.pl)

*Keywords: biodegradable filter masks, biodegradable personal protective equipment, modification of nonwovens with low molecular ester compounds, biodegradation of nonwovens*

The use of biodegradable polymers in the production of disposable products is a response to global trends and, at the same time, supports the reduction of disposal and landfill costs. Biodegradable nonwovens would significantly reduce the harmful impact of used PPE on the environment and ecosystem, as they are most often mismanaged. These products pollute the environment with microplastics, which, despite their small size, are very dangerous pollutants. Therefore, biodegradable polymers, e.g., poly(lactic acid), polyhydroxybutyrate, chitosan, starch, cellulose, are gaining new applications more and more in crucial industries such as textiles, medicine, packaging. The aim of this study was to work to develop a fibre component of a biodegradable protective mask that is a barrier to pathogens, in order to find an alternative to the high waste generating polypropylene materials currently used in industry. The work produced the melt-blown nonwoven using a polymer. Ingeo™ 6252 D (PLA) and 10% by weight of triethyl citrate (TEC) and a spun-bonded nonwoven based on Ingeo™ 6202 D biopolymer (PLA). The melt-blown method is an integrated technology that combines the fibre-forming process with the fleece-making process. It consists of blowing a stream of hot compressed air through a multi-hole nozzle from the extruder head and collecting the resulting fibres in the form of a formed fleece on a collector. However, melt-blown requires high temperatures, which causes degradation of the polymer, but only then thin elementary fibres can be obtained. The process degrades 34% of unmodified PLA and 29% of PLA modified with triethyl citrate. The fibers produced by melt-blow technology are fine, with a diameter of about 1–5  $\mu\text{m}$ , which is why they are used mostly as a flitter material. In spun-bonded technology, the fibers have a much bigger diameter of about 20–30  $\mu\text{m}$ , which makes them more resilient and protects the soft metl-blown nonwoven in the textile construction.

The produced textile materials constructed with an external layer of spun-bonded nonwoven and an internal melt-blown, were subjected to biological, chemical, physico-mechanical and biodegradation tests in the compost.

Biodegradation is a complex process dependent on environmental conditions, polymer properties and microorganisms. Following aqueous extraction, a significant decrease in the pH value of the TEC-containing material extract and a higher absorbance value were observed. Also during biodegradation, it is possible for TEC to be released from the polymer matrix as the moisture content of the compost is 40–60%, and the pH of the medium also changes. Lower pH values of the environment significantly affect the degradation mechanism, with degradation of the terminal parts of the polymer chains occurring at lower pH conditions- depolymerization, while random degradation of the ester bond occurs at higher pH conditions. This is also confirmed by the GPC/SEC analysis, as the polydispersity index does not change significantly during biodegradation, which may indicate terminal degradation of the polymer. After twenty weeks of biodegradation of the textile materials, a mass loss of 77.80% was observed for the modified nonwoven. On the basis of weight loss and SEM images, it was observed that modification of the used biopolymer with the applied plasticizer accelerates the biodegradation process of the produced ecological protective mask.





## Zwalczanie szczepów opornych na antybiotyki przy użyciu plazmidów antybakteryjnych o ukierunkowanym działaniu

### A. Marzec-Grządziel

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

e-mail: agrzadziel@iung.pulawy.pl

Słowa kluczowe: antybiotykooporność, AMR, bakterie, plazmidy, koniugacja DNA

Aby rozwiązać problem oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (AMR), który jest głównym rozpowszechniony na całym świecie, potrzebne jest poszukiwanie nowych sposobów walki z bakteriami wielolekoopornymi. Innowacyjna strategia STARS-TAP opiera się na zastosowaniu plazmidów TAP (Targeted-Antibacterial-Plasmids), które wykorzystują koniugację DNA w celu dostarczenia systemów CRISPR/Cas wywierających aktywność antybakteryjną na specyficznie ukierunkowane szczepy AMR. *In vitro* wykazano, że TAP mogą selektywnie zabijać szczepy AMR poprzez celowanie w chromosom lub przywracać wrażliwość szczepów na antybiotyki poprzez celowanie w plazmidy lekooporności, bez wpływu na inne niecelowane szczepy obecne w populacji bakterii. Przełożenie tych badań przeprowadzonych w warunkach *in vitro* na różne środowiska *in situ* miałyby niewątpliwie rzeczywisty wpływ, otwierając nowe możliwości interwencji w celu wyeliminowania szczepów AMR. W tym celu, planujemy opracowanie bibliotek TAP skierowanych przeciwko wielu klinicznie i środowiskowo istotnym szczepom AMR lub przeciwko specyficznym genom AMR nadającym oporność na beta-laktamy (głównie karbapenemy). Ocenimy zdolność TAPs do specyficznego eliminacji szczepów AMR ze ścieków szpitalnych lub z mikrobioty jelitowej zwierząt. Zajmiemy się również rozprzestrzenianiem się TAPs i ich zdolnością do eliminacji szczepów AMR w ryzosferze roślin oraz glebie. Ta niezbadana i wszechstronna strategia antybakteryjna może być obiecującym podejściem uzupełniającym antybiotyki, w terapii oraz profilaktyce ludzi i zwierząt zakażonych lub skolonizowanych szczepami AMR, a nawet w celu uniknięcia rozprzestrzeniania się AMR w zantropogenizowanych zbiornikach środowiskowych, takich jak gleby rolnicze i ścieki.

Członkowie konsorcjum:

Christian Lesterlin, Centre National de la Recherche Scientifique, France (Koordynator)

Pierre Bogaerts, UCL – Université Catholique de Louvain, Belgium

Gregory Jubelin, French National Research Institute for Agriculture, Food and Environment, France

Anna Marzec-Grzadziel, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Poland

William Couet, French National Institute of Health and Medical Research, France

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki [2021/03/Y/NZ7/00123] oraz JPIAMR-ACTION GA no 963864.



## Control of antibiotic-resistant strains using targeted antibacterial plasmids

**A. Marzec-Grządziel**

*Department of Agricultural Microbiology, Institute of Soil Science and Plant Cultivation  
e-mail: agrzadziel@iung.pulawy.pl*

*Keywords: antibiotic resistance, AMR, bacteria, plasmids, DNA conjugation*

To overcome the problem of antimicrobial resistance (AMR), which is a major prevalence worldwide, the search for new ways to combat multidrug-resistant bacteria is needed. The innovative STARS-TAP strategy is based on the use of Targeted-Antibacterial-Plasmids (TAPs), which use DNA conjugation to deliver CRISPR/Cas systems that exert antibacterial activity against specifically targeted AMR strains. *In vitro*, it has been shown that TAPs can selectively kill AMR strains by targeting the chromosome or restore the strains' sensitivity to antibiotics by targeting drug resistance plasmids, without affecting other untargeted strains present in the bacterial population. Trying to use these *in vitro* studies to different *in situ* environments would undoubtedly have a real impact, opening up new avenues of intervention to eliminate AMR strains. To this end, we plan to develop TAP libraries targeting multiple clinically and environmentally relevant AMR strains or against specific AMR genes conferring resistance to beta-lactams (mainly carbapenems). We will evaluate the ability of TAPs to specifically eliminate AMR strains from hospital wastewater or from the gut microbiota of animals. We will also address the spread of TAPs and their ability to eliminate AMR strains in the rhizosphere of plants and soil. This unexplored and versatile antibacterial strategy may be a promising approach to complement antibiotics, in the treatment and prevention of humans and animals infected or colonized with AMR strains, and even to avoid the spread of AMR in anthropogenized environmental reservoirs such as agricultural soils and wastewater.

*Consortium members:*

*Christian Lesterlin, Centre National de la Recherche Scientifique, France (Coordinator)*

*Pierre Bogaerts, UCL – Université Catholique de Louvain, Belgium*

*Gregory Jubelin, French National Research Institute for Agriculture, Food and Environment, France*

*Anna Marzec-Grzadziel, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Poland*

*William Couet, French National Institute of Health and Medical Research, France*

*This research was co-funded in whole or in part by National Science Centre [2021/03/Y/NZ7/00123] and JPIAMR-ACTION GA no 963864.*

## Analiza genetyczna endofitów wybranych pożytków pszczelich

A. Marzec-Grządziel<sup>1</sup>, J. Ciepiał<sup>1</sup>, A. Janczarek<sup>1</sup>, G. Korbecka-Glinka<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii Rolniczej

<sup>2</sup> Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

e-mail: agrzadzziel@iung.pulawy.pl

*Słowa kluczowe:* bakterie endofityczne, rośliny miododajne, sekwencjonowanie, DNA, ERIC-PCR, Sanger

Pszczółki miodne (*Apis mellifera* L.) są najbardziej rozpowszechnionymi zapylaczami monokultur uprawnych na całym świecie. Zdecydowana większość roślin rosnących w warunkach klimatycznych Polski wymaga do swojego efektywnego wzrostu i rozwoju obecności zapylaczy. Ostatnie badania wykazały natomiast, że w przeciągu 27 lat, ilość owadów latających spadła o 75%. Dwa czynniki środowiskowe przyczyniają się w znacznym stopniu do tych strat: degradacja i fragmentacja siedlisk pszczół oraz negatywne skutki stosowania pestycydów rolniczych. Intensyfikacja rolnictwa powoduje ograniczenie zasobności obszarów zawierających zasoby kwiatowe oraz rośliny miododajne, co powoduje obumieranie rodzin pszczelich na danym terenie. Problemy te mogłyby być rozwiązane przez producentów roślin i właścicieli terenów wiejskich poprzez ochronę i wzbogacanie stanowiących pożytki pszczele zasobów. Do najważniejszych pożytków pszczelich w Polsce możemy zaliczyć rzepak, wykę, mniszek pospolity, facelię błękitną, nostrzyk biały, grykę zwyczajną, ogórecznik lekarski, nawłóć, koniczyny, żmijowiec zwyczajny, lipę, lucernę, szałwię, oraz gorczycę białą. Bogatym źródłem surowców dla pszczół są także trwałe użytki zielone bogate w różne gatunki roślin.

Bakterie endofityczne kolonizują zdrowe tkanki gospodarza, nie wywołując jednocześnie żadnych objawów chorobowych. W warunkach laboratoryjnych mikroorganizmy te izolowane są z powierzchniowo wysterylizowanych organów roślinnych. Najczęściej pojawiającymi się rodzajami wśród bakterii endofitycznych są *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Burkholderia*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, oraz *Stenotrophomonas*. Udowodniono, że wiele bakterii endofitycznych korzystnie wpływa na gospodarza, stymulując jego wzrost i rozwój czy zwiększenie zdolności do przeżycia w niekorzystnych warunków środowiska. Izolacja mikroorganizmów endofitycznych z części roślinnych jest kluczowa w poznaniu ich właściwości genetycznych i fenotypowych. Większość mikroorganizmów jest jednak niezdolna do wzrostu na pożywkach w warunkach laboratoryjnych. Przełomem w badaniach nad składem mikroorganizmów w różnych środowiskach stało się sekwencjonowanie nowej generacji (NGS, next generation sequencing).

Przedstawione badania opierały się na izolacji bakterii endofitycznych z trzech wybranych roślin stanowiących pożytki pszczele: Facelia błękitna, Żmijowiec zwyczajny, Dziurawiec zwyczajny. Rośliny podzielono na 3 części (korzeń, łodyga, liść), które następnie poddano procesowi sterylizacji powierzchniowej. Z części roślin przygotowano homogenaty, które wykorzystano do izolacji DNA. Uzyskane izolaty DNA wykorzystano do sekwencjonowania NGS w celu określenia populacji bakterii w analizowanych próbkach, oraz jako matrycę w reakcji qPCR, w celu określenia liczby kopii genu 16S rRNA. Jednocześnie uzyskane homogenaty wykorzystano do izolacji bakterii endofitycznych na podłożach stałych. Uzyskano 28 szczepy bakteryjne, z których wyizolowano DNA, które wykorzystano w analizie Sanger sekwencji 16S rRNA, oraz genetycznej analizie różnicującej (ERIC-PCR).

Analiza sekwencjonowania NGS wykazała iż większość bakterii endofitycznych analizowanych roślin należy do Proteobacteria oraz Firmicutes, do rodzajów *Ralstonia* oraz *Pseudomonas*. Dużą ilość stanowiły także bakterii niesklasyfikowane należące do rodziny *Bacillaceae*. Największą liczbę kopii genu 16S rRNA wykazano w próbkach z facelii (3.38E6). Analiza Sanger 28 wyizolowanych szczepów bakteryjnych pozwoliła na przypisanie ich do następujących rodzajów: *Pseudomonas* (8 szczepów), *Bacillus* (9 szczepów), *Paenibacillus* (2 szczepy), *Frigobacterium* (1 szczep), *Priestia* (3 szczepy), *Peribacillus* (2 szczepy), *Erwinia* (1 szczep). Analiza ERIC-PCR wykazała natomiast znaczące różnice w strukturze genomowej badanych bakterii.

*Badania wykonano w ramach temat statutowego 1.04 IUNG-PIB „Charakterystyka endofitów bakteryjnych wyizolowanych z wybranych roślin miododajnych oraz określenie ich potencjału biotechnologicznego”.*



## Genetic analysis of endophytes of selected bee nectar flow

A. Marzec-Grządziel<sup>1</sup>, J. Ciepiel<sup>1</sup>, A. Janczarek<sup>1</sup>, G. Korbecka-Glinka<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Agricultural Microbiology

<sup>2</sup> Department of Plant Breeding and Biotechnology

Institute of Soil Science and Plant Cultivation

e-mail: agrzadziel@iung.pulawy.pl

*Keywords: endophytic bacteria, nectar source, sequencing, DNA, ERIC-PCR, Sanger*

Honey bees (*Apis mellifera* L.) are the most widespread pollinators of crop monocultures worldwide. The vast majority of plants growing under Polish climatic conditions require the presence of pollinators for their effective growth and development. In contrast, a recent study showed that in 27 years, the number of flying insects has declined by 75%. Two environmental factors contribute significantly to these losses: the degradation and fragmentation of bee habitat and the negative effects of agricultural pesticides. Agricultural intensification is reducing the abundance of areas containing floral resources and melliferous plants, resulting in the death of bee colonies in the area. These problems could be solved by plant producers and rural landowners by protecting and enriching the resources that constitute bee benefits. Among the most important nectar flow in Poland we can include rapeseed, vetch, common dandelion, blue phacelia, white melilot, buckwheat, borage, goldenrod, clovers, blueweed, vicia, alfalfa, sage, and white mustard. Permanent grasslands rich in various plant species are also a rich source of raw materials for bees.

Endophytic bacteria colonize healthy host tissues without causing any disease symptoms. Under laboratory conditions, these microorganisms are isolated from surface-sterilized plant organs. The most common genera among endophytic bacteria are *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Burkholderia*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, and *Stenotrophomonas*. Many endophytic bacteria have been proven to have a beneficial effect on the host, stimulating its growth and development or increasing its ability to survive in adverse environmental conditions. Isolation of endophytic microorganisms from plant parts is crucial in understanding their genetic and phenotypic characteristics. However, most microorganisms are incapable of growing on media under laboratory conditions. A breakthrough in studying the composition of microorganisms in different environments has been made by next-generation sequencing (NGS).

The research presented here was based on the isolation of endophytic bacteria from three selected bee forage plants: Blue Phacelia, blueweed, St. John's Wort. Plants were divided into 3 parts (root, stem, leaf), which were then subjected to surface sterilization. Homogenates were prepared from the plant parts and used for DNA isolation. The DNA isolates obtained were used for NGS sequencing to determine the bacterial population in the samples analyzed, and as a template in qPCR reactions to determine the copy number of the 16S rRNA gene. At the same time, the homogenates obtained were used to isolate endophytic bacteria on solid media. Twenty-eight bacterial strains were obtained, from which DNA was isolated and used in Sanger analysis of 16S rRNA sequences, and genetic differential analysis (ERIC-PCR).

NGS sequencing analysis showed that most of the endophytic bacteria of the analyzed plants belong to Proteobacteria and Firmicutes, to the genera *Ralstonia* and *Pseudomonas*. Unclassified bacteria belonging to the Bacillaceae family also constituted a large number. The highest copy number of the 16S rRNA gene was found in samples from phacelia (3.38E6). Sanger analysis of the 28 isolated bacterial strains made it possible to assign them to the following genera: *Pseudomonas* (8 strains), *Bacillus* (9 strains), *Paenibacillus* (2 strains), *Frigobacterium* (1 strain), *Priestia* (3 strains), *Peribacillus* (2 strains), *Erwinia* (1 strain). ERIC-PCR analysis, however, showed significant differences in the genomic structure of the tested bacteria.

*The research was carried out within the framework of the statutory subject 1.04 of IUNG-PIB "Characterization of bacterial endophytes isolated from selected melliferous plants and determination of their biotechnological potential".*

## Czy bakterie potencjalnie degradujące MCPA mogą promować wzrost roślin?

E. Mierzejewska<sup>1</sup>, M. Urbaniak<sup>1\*</sup>, J. Vangrosnveld<sup>2</sup>, S.Thijs<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź, Polska

<sup>2</sup> Centre of Environmental Sciences, Uniwersytet w Hasselt, Agoralaan z/n, Gebouw D, 3590 Diepenbeek, Belgia

\* e-mail: [magdalena.urbaniak@biol.uni.lodz.pl](mailto:magdalena.urbaniak@biol.uni.lodz.pl)

*Słowa kluczowe: MCPA, biodegradacja, bakterie, promowanie wzrostu rośliny*

MCPA (kwas 2-metylo-4-chlorofenoksyoctowy) jest jedną z najczęściej stosowanych herbicydowych substancji aktywnych do selektywnego zwalczania jednorocznych i wieloletnich chwastów w rolnictwie. Ostatnie doniesienia wykazały, że pozostałości MCPA mogą być akumulowane np. w osadach dennych. Sukcesywne uwalnianie pozostałości i metabolitów MCPA w środowisku może negatywnie wpływać na rośliny niebędące organizmami docelowymi. Biorąc pod uwagę powyższe, stosowanie MCPA może stanowić zagrożenie dla rodzimej flory i tym samym dobrostanu środowiska.

Ostatnie badania wykazały, że bakterie wyizolowane ze środowiska mogą być zaangażowane w biodegradację herbicydów fenoksykwasowych. Bakterie rozkładające MCPA wyizolowano zarówno ze środowisk, gdzie nie stosowano herbicydów fenoksykwasowych oraz ze środowisk zanieczyszczonych MCPA. Mikroorganizmy degradujące MCPA zostały wyizolowane z gleby, osadów, ryzosfery oraz endosfery roślin. Jednak pomimo wielu badań dotyczących biodegradacji MCPA przez bakterie, jak dotąd nie sprawdzano ich właściwości promujących wzrost roślin (ang. *plant growth promoting properties*; PGPPs) w warunkach stresu środowiskowego. Dlatego głównym celem naszych badań było nie tylko wyizolowanie bakterii potencjalnie degradujących MCPA, ale również ocena ich właściwości pod kątem promowania wzrostu roślin.

W celu realizacji założeń pracy badawczej, wyizolowano bakterie potencjalnie degradujące MCPA z różnych środowisk (gleby rolniczej świeżo i historycznie zanieczyszczonej MCPA; rowu melioracyjnego; osadu rzecznoego; gleby przy brzegu rzeki) stosując metody mikrobiologiczne oparte na zastosowaniu pożywek selektywnych. Następnie do identyfikacji bakterii zastosowano sekwencjonowanie genu 16S rRNA. Sprawdzone również, czy wybrane szczepy rosną na pożywce minimalnej z MCPA (0,1; 1,0 i 2,0 mM), jako jedyne źródło węgla. Następnie zbadano następujące właściwości promujące wzrost rośliny (PGPPs) tj.: produkcja acetoiny, deaminazy ACC, sideroforów, kwasów organicznych; oraz solubilizacja fosforu i kwasu fitowego. Dodatkowo zbadano tolerancję badanych szczepów na wybrane metale ciężkie: Cd (0,4; 0,8; 1,6 mM); Zn (0,6; 1,0; 2,5 mM); Cu (0,4 mM); i Ni (1,0 mM).

Wyselekcjonowano i zidentyfikowano 10 szczepów bakteryjnych potencjalnie degradujących MCPA tj.: *Acinetobacter calcoaceticus* (X81657) wyizolowany z gleby rolniczej świeżo zanieczyszczonej MCPA; *Pseudomonas* sp. 35L (AB003628), *Pseudomonas* sp. LAB-21 (AB051698) i *Pseudomonas chlororaphis* (Z76673) wyizolowane z gleby rolniczej historycznie skażonej MCPA; *Acinetobacter guillouiae* (X81659), *Leclercia adecarboxylata* (KJ633046), *Pantoea agglomerans* (KJ633046) wyizolowane z rowu melioracyjnego; *Acinetobacter johnsonii* (X95303) i *Acinetobacter guillouiae* (X81659) wyizolowane z osadu rzecznoego; *Acinetobacter* sp. L (DQ189256) wyizolowany z gleby pobranej przy brzegu rzeki. Dalsza analiza

wykazała, że szczepy wyizolowane z gleby rolniczej i rowu melioracyjnego mogą rosnąć na pożywce minimalnej z MCPA (2,0 mM). Dodatkowo, bakterie wyizolowane z gleb rolniczych wykazywały najwyższy potencjał promowania wzrostu roślin, ale tylko dla szczepu *L. adcarboxylata* wszystkie badane testy PGPP były pozytywne. Badania tolerancji metali ciężkich wykazały, że wyizolowane szczepy mogą również rosnąć w pożywkach zawierających Cd, Zn, Cu lub Ni: zwłaszcza *P. agglomerans* i *Acinetobacter* sp. L.

Nasze badania wykazały, że szczególnie bogatym źródłem bakterii potencjalnie degradujących MCPA jest gleba rolnicza. Wybrane bakterie rosnące na pożywkach z MCPA, wykazują również szereg właściwości promujących wzrost roślin. Dodatkowo mogą wykazywać tolerancję na różne stężenia metali ciężkich. Dlatego, wyizolowane szczepy mają wielozadaniowy potencjał nie tylko do usuwania zanieczyszczeń ze środowiska, ale jednoczesnego promowania wzrostu rodzimych roślin w danym środowisku. Wybrane szczepy będą dalej wykorzystywane do kontynuacji badań nad degradacją MCPA.

*Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki z projektu PRELUDIUM 20 "Indukcja ekspresji genów odpowiedzialnych za biodegradację MCPA przez wybrane wtórne metabolity roślinne" (UMO-2021/41/N/NZ9/01170) oraz UHasselt Methusalem project 08M03VGRJ.*





## Can potential MCPA-degrading bacteria promote plant growth?

E. Mierzejewska<sup>1</sup>, M. Urbaniak<sup>1\*</sup>, J. Vangrosnveld<sup>2</sup>, S.Thijs<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UNESCO Chair on Ecohydrology and Applied Ecology, 12/16 Banacha street, 90–237 Łódź, Poland

<sup>2</sup> Centre of Environmental Sciences, Hasselt University, Agoralaan z/n, Gebouw D, 3590 Diepenbeek, Belgium

\* e-mail: [magdalena.urbaniak@biol.uni.lodz.pl](mailto:magdalena.urbaniak@biol.uni.lodz.pl)

*Keywords: MCPA, biodegradation, bacteria, plant growth promoting properties*

MCPA (2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid) is one of the most commonly used herbicide active substance to selectively control annual and perennial weeds in agriculture. Recent reports showed that MCPA can be accumulated in high concentrations in *i.a.* bottom sediments. Thus, slowly released residues and metabolites of MCPA in the environment can negatively affect untargeted plants. Hence, they can serve as a danger for native flora and environmental wellbeing.

Lately research showed that various environmental bacteria can be involved in phenoxy herbicides biodegradation. MCPA-degrading bacteria were isolated from both pristine and contaminated environments. They can be present in bulk soil, sediments, rhizosphere and plant endosphere. However still the potential of bacteria to simultaneously degrade MCPA and promote plants growth has not been described. Therefore, the main aim of our research was to isolate and assess plant growth promoting characteristics of potential MCPA-degraders.

In order to achieve the objectives of this research we isolated the potential MCPA-degrading bacteria from different environments (agricultural soil freshly and historically contaminated with MCPA; drainage ditch; river sediment; soil at the river bank) using culture-dependent approach *i.e.* selective medium. Subsequently, 16S rRNA gene sequencing was used to identify the isolates. We also checked if selected strains can be grown on MCPA (0.1, 1.0 and 2.0 mM) as a sole carbon source. Subsequently, following plant growth promoting properties (PGPPs) were tested: production of acetoin, ACC deaminase, siderophores, organic acids; phosphorus and phytate solubilization. Additionally, we tested the tolerance to selected heavy metals: Cd (0.4, 0.8, 1.6 mM); Zn (0.6, 1.0, 2.5 mM); Cu (0.4 mM); and Ni (1.0 mM).

We selected and identified 10 MCPA-tolerant bacterial strains: *Acinetobacter calcoaceticus* (X81657) isolated from agricultural soil freshly treated with MCPA; *Pseudomonas* sp. 35L (AB003628), *Pseudomonas* sp. LAB-21 (AB051698) and *Pseudomonas chlororaphis* (Z76673) isolated from agricultural soil historically contaminated with MCPA; *Acinetobacter guillouiae* (X81659), *Leclercia adecarboxylata* (KJ633046), *Pantoea agglomerans* (KJ633046) isolated from drainage ditch; *Acinetobacter johnsonii* (X95303) and *Acinetobacter guillouiae* (X81659) isolated from river sediment; *Acinetobacter* sp. L (DQ189256) isolated from soil sampled at the river bank. Further analysis showed that strains isolated from agricultural soil and drainage ditch can grow on MCPA (2.0 mM) as a sole carbon source. Additionally, also bacteria originating from agricultural soil exhibited highest PGP potential, but only for *L. adecarboxylata* all studied PGPPs tests were positive. Screening of the heavy metals tolerance showed that potential MCPA-degraders can grow in the presence of studied compounds: especially *P. agglomerans* and *Acinetobacter* sp. L can grow on medium enriched with either Cd, Zn, Cu or Ni.

In conclusion, our research showed that especially agricultural soil serve as a sink of potential MCPA-degraders. Selected MCPA-tolerant bacteria possess a wide array of PGPPs and additionally can be tolerant to different concentrations of heavy metals. Therefore, these isolates might be considered as multipurpose microorganisms, which not only degrade the pollutants but also potentially contribute to better health of plants in the environment. Selected strains will be further used for the continuation of study on MCPA degradation.

*This research was supported by The Council of the National Science Centre in Poland PRELUDIUM 20 project "Induction of expression of genes responsible for biodegradation of MCPA by selected plant secondary metabolites" (UMO-2021/41/N/NZ9/01170). This work was also supported by the UHasselt Methusalem project 08M03VGRJ.*

## Ocena zdolności szczepów *Bacillus* do wzrostu, produkcji biosurfaktantów oraz detoksykacji ksenobiotyków obecnych w odciekach pochodzących ze składowiska odpadów niebezpiecznych

A. R. Nowak<sup>1</sup>, A. Walaszczyk<sup>2</sup>, W. Rzeźnikowska<sup>1</sup>, J. Długoński<sup>3</sup>, K. Paraszkiwicz<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne „Bio-Mik”, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź, Polska

<sup>2</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź, Polska

<sup>3</sup> Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź, Polska

e-mail: [aleksander.nowak@edu.uni.lodz.pl](mailto:aleksander.nowak@edu.uni.lodz.pl)

Słowa kluczowe: mikrobiologiczna detoksykacja, toksyczne odcieki, *Bacillus*, biosurfaktanty

Drobnoustroje izolowane ze środowisk skażonych ksenobiotykami (np. pochodzące ze składowisk odpadów niebezpiecznych) często charakteryzują się szeregiem niezwykłych uzdolnień metabolicznych. Często mogą one rosnąć w obecności toksyn, prowadząc zarówno procesy detoksykacji, jak i mineralizacji powyższych związków.

Celem pracy było określenie wzrostu szczepów *Bacillus*, produkcji biosurfaktantów oraz zdolności bakterii do detoksykacji ksenobiotyków w hodowlach prowadzonych z dodatkiem odcieków.

W badaniach stosowano siedem szczepów bakterii z rodzaju *Bacillus*, pochodzących z gleby ryzosferowej pobranej ze Składowiska Odpadów Niebezpiecznych (SON) w Zgierzu. Bakterie hodowano stosując podłoże Luria-Bertani (LB) oraz podłoże LB bez NaCl. Dodatkowo używano warianty powyższych podłoży, w których 40% składu ( $v/v$ ) zastępowano wodą destylowaną lub odciekami pochodzącymi z kwatery I SON w Zgierzu. Hodowle bakteryjne prowadzono przez 72 godz., w warunkach wytrząsania (120 obr./min), w temp. 28°C. Wzrost bakterii oceniano na podstawie gęstości optycznej (ang. *Optical Density*, OD;  $\lambda = 630$  nm). Aktywność powierzchniową (ap) płynów pohodowlanych wyznaczano stosując test zapadającej się kropli (ang. *Drop Collapsing Test*, DCT). Analizę jakościową i ilościową biosurfaktantów prowadzono stosując technikę chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Detoksykację odcieków badano z wykorzystaniem nasion ogórka siewnego (*Cucumis sativus* L.) i pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.), inkubowanych w fitotronie, w obecności płynów pohodowlanych, przez 120 godz., w temp. 25°C.

Stwierdzono, że dodatek odcieków powoduje ponad 2-krotny wzrost poziomu OD w hodowlach wszystkich badanych szczepów *Bacillus* w porównaniu do układów kontrolnych. Odcieki w zróżnicowany sposób wpłynęły na wartości ap wyznaczone testem DCT. Największy wzrost ap (o ponad 35%) wyznaczono w hodowli szczepu Zg 1.3 prowadzonej w obecności odcieków. Z kolei największy spadek (niemal 20%) wartości badanego parametru stwierdzono w hodowli szczepu Zg 7.6. Analiza produkcji biosurfaktantów wykazała, że wszystkie szczepy produkują surfaktynę i iturynę. W przypadku dwóch szczepów (Zg 3.8 i Zg 7.6) wyznaczono bardzo niski poziom produkcji analizowanych lipopeptydów, mieszczący się w przedziale od 0,4 do 3 mg/L. Stwierdzono, że pozostałe szczepy należą do nadproducentów biosurfaktantów, przy czym wytwarzają ponad 3-krotnie więcej ituryny niż surfaktyny. Najwyższą zawartość surfaktyny (32,6 mg/L) i ituryny (114,0 mg/L) wyznaczono w próbie szczepu Zg 1.4. Stwierdzono,

że dodatek odcieków do podłoża LB wpłynął w zróżnicowany sposób na produkcję biosurfaktantów. W hodowli szczepu 8.8. prowadzonej z dodatkiem odcieków nastąpiło całkowite zahamowanie produkcji biosurfaktantów, natomiast ponad 30% wzrost analizowanych związków w obecności odcieków stwierdzono w hodowlach szczepów Zg 1.3 oraz Zg 1.4. W pozostałych układach odcieki nie zmieniły w istotny sposób poziomu wydzielania biosurfaktantów. Wyznaczono, że układy kontrolne zawierające : 1) wodę z dodatkiem 40% odcieków; 2) podłoże LB bez NaCl oraz 3) podłoże LB bez NaCl z dodatkiem 40% odcieków ograniczają kiełkowanie nasion ogórka i pszenicy odpowiednio o 20, 20 i 33% w porównaniu do kiełkowania nasion z użyciem wody. Uzyskane dane wskazały, że zastosowane podłoże mikrobiologiczne jak i odcieki obniżają intensywność kiełkowania nasion. Dodatek odcieków do hodowli bakteryjnych obniżył efektywność kiełkowania nasion ogórka (nawet o 50%). Wyjątek stanowiły nasiona ogórka inkubowane w obecności płynu pohodowlanego szczepu Zg 7.6. Efektywność kiełkowania nasion ogórka w płynie pohodowlanym szczepu Zg 7.6 wyznaczono na poziomie 63%, natomiast w supernatancie z dodatkiem odcieków wzrosła do 90%. Uzyskane wyniki wskazały, że szczep Zg 7.6 jest zdolny do obniżania toksyczności odcieków. Testy fitotoksyczności z zastosowaniem nasion pszenicy także potwierdziły, że bakterie *Bacillus* Zg 7.6 obniżają toksyczność użytych odcieków.

Uzyskane wyniki wskazały że: 1) użyte w badaniu szczepy *Bacillus* zdolne są do wykorzystania związków zawartych w odciekach jako źródła węgla i energii; 2) obecność odcieków wpływa w zróżnicowany sposób na produkcję/aktywność biosurfaktantów badanych drobnoustrojów; 3) w obrębie siedmiu analizowanych szczepów, izolat Zg 7.6 zdolny jest do obniżania toksycznego działania odcieków podczas procesu kiełkowania nasion ogórka siewnego i pszenicy zwyczajnej.

## Study on *Bacillus* strains ability to grow, produce biosurfactants and detoxify xenobiotics present in leachate from a hazardous waste landfill

A. R. Nowak<sup>1</sup>, A. Walaszczyk<sup>2</sup>, W. Rzeźnikowska<sup>1</sup>, J. Długoński<sup>3</sup>, K. Paraszkiwicz<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Student Science Club Biotechnology and Microbiology “Bio-Mik”, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, ul. Banacha 12/16, 90–237 Lodz, Poland

<sup>2</sup> Doctoral School of Exact and Natural Sciences, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, ul. Banacha 12/16, 90–237 Lodz, Poland

<sup>3</sup> Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, ul. Banacha 12/16, 90–237 Lodz, Poland  
e-mail: [aleksander.nowak@edu.uni.lodz.pl](mailto:aleksander.nowak@edu.uni.lodz.pl)

**Keywords:** microbial detoxification, toxic leachates, bacillus, biosurfactants

Microorganisms isolated from environments contaminated with xenobiotics (e.g. from hazardous waste landfills) exhibit various unusual metabolic abilities. They can often grow in the presence of toxins, leading to both detoxification and mineralization processes of the above compounds. The aim of the study was to determine the growth of *Bacillus* strains, the production of biosurfactants and the ability of bacteria to detoxify xenobiotics in cultures which were supplemented with leachate. Seven strains of bacteria belonging to the genus *Bacillus*, derived from rhizosphere soil taken from the Landfill of Hazardous Waste (LHW) in Zgierz, were used in the study. These strains were cultured using Luria-Bertani (LB) medium and LB medium without NaCl. In addition, variants of the above media were used, in which 40% of the composition (V/V) was replaced with distilled water or effluents from the LHW in Zgierz. Bacterial cultures were carried out for 72 hours under shaking conditions (120 rpm) at 28°C. Bacterial growth was assessed by Optical Density (OD;  $\lambda = 630$  nm). The surface activity (sa) of post-culture fluids was determined using the Drop Collapsing Test (DCT). Qualitative and quantitative analysis of biosurfactants was carried out using the technique of liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Leachate detoxification was tested using cucumber seeds (*Cucumis sativus* L.) and common wheat seeds (*Triticum aestivum* L.), incubated in a phytotron in the presence of post-culture fluids for 120 hours at 25°C. It was found that the addition of leachates caused a more than 2-fold increase in the OD level in the cultures of all tested *Bacillus* strains compared to the control systems. The leachates had a different effect on the sa values determined by the DCT test. The greatest increase in sa (by more than 35%) was determined in the culture of the Zg 1.3 strain carried out in the presence of leachate. In turn, the largest decrease (almost 20%) of the value of the examined parameter was found in the culture of the Zg 7.6 strain. Analysis of biosurfactant production showed that all strains produce surfactin and iturin. In the case of two strains (Zg 3.8 and Zg 7.6), a very low level of production of the analyzed lipopeptides was determined, ranging from 0.4 to 3 mg/L. The remaining strains were found to be superproducers of biosurfactants, producing over 3 times more iturin than surfactin. The highest content of surfactin (32.6 mg/L) and iturin (114.0 mg/L) was determined in the Zg 1.4 test. It was found that the addition of leachates to the LB substrate had a different effect on the production of biosurfactants. In the culture of strain 8.8 conducted with the addition of leachates, the production of surfactin and iturin was completely inhibited. An over 30% increase in the content of both analyzed lipopeptides under the influence of leachate occurred in the cultures of the Zg 1.3 and Zg 1.4 strains. In the remaining systems,

the effluents did not significantly change the level of biosurfactant secretion. It was determined that the control systems containing: 1) water with the addition of 40% leachate; 2) LB medium without NaCl and 3) LB medium without NaCl with the addition of 40% of leachates reduced the germination of cucumber and wheat seeds by 20, 20 and 33%, respectively, compared to seed germination with water. The obtained data showed that the applied microbiological medium as well as the effluents reduced the intensity of seed germination. Supernatants obtained from the cultures of the Zg 7.6 and Zg 8.8 strains carried out in the absence of leachate caused a reduction of seed germination to the level of 63% compared to the control system with water. The above results indicated that the strains Zg 7.6 and Zg 8.8 secrete into the medium metabolites limiting the studied process. The addition of leachate to the bacterial cultures decreased the efficiency of cucumber seed germination (up to 50%). The exception were cucumber seeds incubated in the presence of post-culture fluid of the Zg 7.6 strain. The germination efficiency of cucumber seeds in the post-culture fluid of the Zg 7.6 strain was determined at the level of 63%, while in the post-culture fluid with the addition of leachate it increased to 90%. The obtained results show that the Zg 7.6 strain is capable of reducing the toxicity of leachates. Phytotoxicity tests using wheat seeds also confirmed that *Bacillus* Zg 7.6 bacteria reduce the toxicity of the used leachate. The obtained results show that: 1) the examined *Bacillus* strains are able to use the compounds contained in the leachates as a source of carbon and energy; 2) the presence of leachates affects the production/activity of biosurfactants of the tested microorganisms in different ways; 3) within the seven analyzed strains, the Zg 7.6 isolate is able to reduce the toxic effect of leachates during the germination of cucumber and common wheat seeds.

## Właściwości probiotyczne szczepów bakterii fermentacji mlekowej do konstrukcji ochronnego biopreparatu dla pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.)

A. Nowak, A. Leska

Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90–530 Łódź

Słowa kluczowe: probiotyki, biopreparaty, insektycydy, patogeny pszczoły miodnej

Rolnictwo przemysłowe, a szczególnie stosowane na masową skalę chemiczne środki owadobójcze (insektycydy), używane w ochronie roślin zapylanych przez owady bezpośrednio wpływają na zdrowie i kondycję pszczół miodnych (*Apis mellifera* L.). Przyczyniają się one do zatrucia, osłabienia odporności tych owadów i zwiększenia podatności na zakażenia mikroorganizmami patogennymi, pasożytami i wirusami wywołującymi choroby, co w efekcie prowadzi do tzw. zespołu masowego ginięcia pszczoły miodnej. Jednymi z najbardziej toksycznych i najczęściej wykrywanych w martwych koloniach pszczół, ulach, miodzie i produktach pszczelich pestycydów są: chlorpyrifos, imidakloprid, kumafos, fluwalinat, tiametoksam, klotianidyna i in. Kolejnym zagrożeniem są antybiotyki stosowane w hodowli pszczół. Ich obecność jest bardzo niekorzystna, ponieważ prowadzi do zachwiania równowagi (dysbiozy) w mikrobiocie przewodu pokarmowego pszczół, osłabiając ich odporność, co zwiększa ryzyko zakażenia patogenami, w tym oportunistycznymi. Z uwagi na powyższe, intensywnie poszukuje się naturalnych, ekologicznych metod do zwalczania patogenów pszczół, które pozwoliłyby na wyeliminowanie potrzeby stosowania pestycydów i antybiotyków w ich hodowli, przyczyniając się tym samym do poprawy kondycji i odporności rodzin pszczelich, zwiększenia ich tolerancji na pestycydy i antybiotyki, poprawę warunków sanitarnych w ulach, jak i otaczającym środowisku przyrodniczym, a co z tym związane – zmniejszenia degradacji środowiska oraz obiegu zanieczyszczeń w wodzie i glebie. Bakterie fermentacji mlekowej (LAB) są naturalnymi mieszkańcami przewodu pokarmowego pszczół, gdzie pełnią szereg pożytecznych funkcji.

Celem badań (*in vitro*) było wyselekcjonowanie szczepów LAB o potencjale prozdrowotnym (probiotycznym) dla pszczół, które mogłyby posłużyć do konstrukcji innowacyjnego naturalnego ekologicznego biopreparatu dla tych owadów. Do wstępnych badań skринingowych wykorzystano 103 szczepy LAB: 51 izolatów ze środowiska pszczelego (np. kwiaty, miód, mleczko pszczele) oraz 52 szczepy kolekcyjne różnego pochodzenia (np. kiszonki roślinne, zakwasy, kał ludzki, jelito robotnicy pszczoły miodnej). W pierwszym etapie zbadano aktywność antagonistyczną LAB i ich metabolitów względem 21 patogenów pszczelich (w tym *Paenibacillus larvae* i *Melissococcus plutonius*). Dla wybranych szczepów LAB oszacowano ich zdolność detoksykacji insektycydów, hamowanie powstawania oraz eradykacji biofilmów tworzonych przez patogeny, zdolności adhezyjne do różnych powierzchni biotycznych (nabłonek jelitowy, śluz jelitowy, kolagen), a także przeżywalność w symulowanym przewodzie pokarmowym oraz w syropach cukrowych stosowanych w pszczelarstwie. Szczepy LAB w największym stopniu hamowały wzrost oraz tworzenie biofilmów przez *Paenibacillus* spp. Obniżały również toksyczność chlorpyrifosu i kumafosu (do ok. 64%) oraz imidaklopridu

(do ok. 36%). Na podstawie przeprowadzonych analiz wyselekcjonowano 10 szczepów LAB o największym potencjale probiotycznym, z których najefektywniejszymi w detoksykacji pestycydów okazały się *Pediococcus pentosaceus* 14/1 (izolowany z kwiatów *Lavandula angustifolia* L.), *Pediococcus parvulus* OK-S (izolowany z kiszonki roślinnej), *Lactiplantibacillus plantarum* 18/1 (izolowany z kwiatów *Buddleja davidii* L.) oraz *Ligilactobacillus salivarius* 9AN (izolowany z kałomoczu kurczaka). Przeprowadzone badania wymagają potwierdzenia *in vivo*.

*Badania zrealizowano w ramach Projektu Wojewódzkiego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Łodzi (729/BN/D/2019) pt.: „Dobór mikroorganizmów do konstrukcji ekologicznego preparatu ochronnego dla pszczoły miodnej”.*



## Probiotic properties of lactic acid bacteria strains for the construction of a protective biopreparation for honeybees (*Apis mellifera* L.)

A. Nowak, A. Leska

Department of Environmental Biotechnology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences,  
Lodz University of Technology, ul. Wólczańska 171/173, 90–530 Łódź

*Keywords: probiotics, biopreparations, insecticides, honeybee pathogens*

Industrial agriculture, especially chemical insecticides applied on a massive scale to protect insect-pollinated plants, directly affects the health and condition of honeybees (*Apis mellifera* L.). Insecticides contribute to poisoning, weaken the immunity of these insects and increase susceptibility to infections caused by pathogenic microorganisms, parasites and viruses, resulting in the so-called Colony Collapse Disorder. Among the pesticides classified as the most toxic and most frequently detected in dead honeybee colonies, hives, honey and honeybee products are chlorpyrifos, imidacloprid, coumaphos, fluvalinate, thiamethoxam, clothianidin and others. Other threats that reduce honeybee viability are the antibiotics used in beekeeping. Their presence is unfavorable, as it leads to an imbalance (dysbiosis) in the microbiota of the honeybees' digestive tract, which weakens the immunity of these pollinators and increases the risk of infection by pathogens, including opportunistic ones. Considering the above, natural and ecological methods to control honeybee pathogens are being intensively sought to eliminate the need for the use of pesticides and antibiotics in beekeeping. This would also contribute to improving the condition and immunity of colonies, increasing honeybee tolerance to pesticides and antibiotics, enhancing sanitary conditions in hives and the surrounding natural environment, and thus – reducing environmental degradation and the circulation of pollutants in water and soil. Lactic acid bacteria (LAB) are natural inhabitants of the honeybees' digestive tract, where they perform several beneficial functions.

The aim of this study (*in vitro*) was to select LAB strains with health-promoting (probiotic) potential for honeybees, which could be used to construct an innovative, natural, and ecological biopreparation for these insects. 103 LAB strains were applied for the initial screening tests: 51 isolates from the honeybee environment (e.g., flowers, honey, royal jelly) and 52 collection strains of various origins (e.g., plant silages, sourdough, human feces, honeybee worker gut). In the first stage of the research, the antagonistic activity of LAB and their metabolites against 21 honeybee pathogens (including *Paenibacillus larvae* and *Melissococcus plutonius*) was tested. Subsequently, various properties of selected LAB strains were determined, such as detoxification of insecticides, inhibition of the formation and eradication of biofilms produced by pathogens, adhesion to different biotic surfaces (intestinal epithelium, intestinal mucus, collagen), as well as survival in a simulated gastrointestinal tract and sugar syrups used in beekeeping. LAB inhibited the growth and formation of biofilms of *Paenibacillus* spp. to the greatest extent. Tested bacterial strains also reduced the toxicity of chlorpyrifos

and coumaphos (to approx. 64%) and imidacloprid (to approx. 36%). Based on the analyses, 10 LAB strains with the finest probiotic potential were selected, of which the most effective in detoxification of pesticides turned out to be *Pediococcus pentosaceus* 14/1 (isolated from *Lavandula angustifolia* L. flowers), *Pediococcus parvulus* OK-S (isolated from plant silage), *Lactiplantibacillus plantarum* 18/1 isolated from *Buddleja davidii* L. flowers) and *Ligilactobacillus salivarius* 9AN (isolated from chicken feces). The conducted studies require confirmation *in vivo*.

*The research was carried out as part of the Project of the Provincial Fund for Environmental Protection and Water Management in Łódź (729/BN/D/2019) entitled: "Selection of microorganisms for the construction of an ecological protective preparation for honeybees".*

## Eliminacja zearalenonu przez grzyby entomopatogenne z rodzaju *Cordyceps*

M. Nowak\*, P. Bernat, S. Różalska

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska  
Uniwersytet Łódzki, Stefana Banacha 12/16, 90–237 Łódź

\* e-mail: monika.nowak@biol.uni.lodz.pl

Słowa kluczowe: grzyby entomopatogenne, *Cordyceps* spp., zearalenon, eliminacja, LC-MS/MS

Grzyby entomopatogenne to mikroorganizmy glebowe uczestniczące w biokontroli populacji owadów w środowisku. Ze względu na swoje właściwości, mikroorganizmy te są wykorzystywane w rolnictwie ograniczającym użycie insektycydów chemicznych w postaci biopreparatów w celu eliminacji szkodników upraw. Z uwagi na szerokie spektrum żywicieli oraz silne właściwości owadobójcze, do produkcji biopreparatów najczęściej wybierane są gatunki z rodzaju *Metarhizium*, *Beauveria* oraz *Cordyceps*.

Środowisko glebowe, w którym bytują grzyby entomopatogenne, jest bogate w różnego rodzaju zanieczyszczenia. Wśród metabolitów grzybowych poważne zagrożenie toksykologiczne stwarzają mykotoksyny syntetyzowane przez gatunki z rodzaju *Fusarium*, w szczególności *F. graminearum* oraz *F. culmorum*, zanieczyszczające uprawy rolnicze na całym świecie. Grzyby te są producentami toksyn takich jak zearalenon, deoksyniwalenol, niwalenol, T-2, HT-2 i fumonizyn, spośród których szczególne niebezpieczeństwo stwarza zearalenon. Związek ten jest podobny pod względem strukturalnym do naturalnie występujących estrogenów, takich jak estradiol, estron, estriol, 7β-estradiol oraz 17-β-estradiol, w związku z czym może przyłączać się do receptorów estrogenowych powodując liczne zaburzenia związane z rozrodczością u ludzi i zwierząt. Metabolizm zearalenonu u ludzi i zwierząt jest dobrze poznany, natomiast dane literaturowe odnoszące się do jego przemian w środowisku glebowym są nieliczne.

Grzyby entomopatogenne oraz grzyby strzępkowe z rodzaju *Fusarium* koegzystują ze sobą nie tylko w środowisku glebowym. Wiele gatunków grzybów entomopatogennych to znane endofity roślin, m.in. takich jak pszenica, jęczmień czy kukurydza, które są szczególnie narażone na zanieczyszczenie toksynami metabolizmu *Fusarium*. Celem niniejszej pracy była ocena potencjału eliminacyjnego grzybów entomopatogennych z rodzaju *Cordyceps* wobec mykotoksyny fuzaryjnej – zearalenonu.

Badania opierały się na wyznaczeniu kinetyki wzrostu trzech szczepów grzybowych z rodzaju *Cordyceps*, pochodzących z międzynarodowej kolekcji grzybów entomopatogennych, tj. *C. fumosorosea* ARSEF2679, *C. farinosa* ARSEF1939 i *C. tenuipes* ARSEF2488 oraz ocenie wpływu zearalenonu w stężeniach 0,5 i 1 mg/L na wzrost tych mikroorganizmów, w ciągu 120 godzinnej hodowli. Mykotoksyna nie miała negatywnego wpływu na przyrost biomasy badanych grzybów, natomiast różniły się one między sobą kinetyką wzrostu. Najszybciej rosnącym szczepem był *C. fumosorosea*. W 12 godzinie inkubacji u szczepów *C. farinosa* i *C. tenuipes* odnotowano odpowiednio o około 28 i 53% wolniejszy wzrost w stosunku do szczepu *C. fumosorosea*. Szybkość wzrostu badanych szczepów z rodzaju *Cordyceps* miała

odzwierciedlenie w szybkości usuwania zearalenonu z podłoża wzrostowego. Analiza ilościowa pozostałości zearalenonu w ekstraktach pochodzących została przeprowadzona z zastosowaniem techniki chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas LC-MS/MS, w trybie skanowania MRM (ang. *Multiple Reaction Monitoring*). Całkowity ubytek mykotoksyny w stężeniu 0,5 mg/L odnotowano u *C. fumosorosea*, *C. farinosa* i *C. tenuipes* odpowiednio w 48, 72 i 96 godzinie inkubacji, natomiast przy dwukrotnie wyższej dawce efekt w postaci całkowitej eliminacji mykotoksyny przesunął się średnio o kolejną dobę. Uzyskane wyniki dowiodły, że grzyby entomopatogenne z rodzaju *Cordyceps* mogą być stosowane nie tylko jako bioinsektycydy, ale również jako czynniki mikrobiologiczne eliminujące zanieczyszczenia środowiska, takie jak zearalenon.

## Removal of zearalenone by entomopathogenic fungi of the genus *Cordyceps*

M. Nowak\*, P. Bernat, S. Różalska

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź, Stefana Banacha 12/16, 90–237 Łódź

\* e-mail: monika.nowak@biol.uni.lodz.pl

*Keywords:* entomopathogenic fungi, *Cordyceps* spp., zearalenone, elimination, LC-MS/MS

Entomopathogenic fungi are soil microorganisms that participate in the biocontrol of insect populations in the environment. In addition to their widespread occurrence in soils, these microorganisms are also introduced into ecosystems in the form of bioinsecticides in agriculture limiting the use of chemical insecticides to eliminate crop pests. Due to the wide spectrum of hosts and strong insecticidal properties, species from the genus *Metarhizium*, *Beauveria* and *Cordyceps* are most often selected for the production of bioinsecticides.

In soil environment, entomopathogenic fungi come into contact with numerous toxic substances. Among fungal metabolites, mycotoxins synthesized by species of the genus *Fusarium*, especially *F. graminearum* and *F. culmorum*, pose a serious toxicological threat and contaminate agricultural crops all over the world. These fungi are producers of toxins such as zearalenone, deoxynivalenol, nivalenol, T-2, HT-2 and fumonisins, of which zearalenone is particularly dangerous. This compound is structurally similar to naturally occurring estrogens, such as estradiol, estrone, estriol, 7 $\beta$ -estradiol and 17- $\beta$ -estradiol, and therefore can attach to estrogen receptors causing numerous reproductive disorders in humans and animals. Zearalenone metabolism in humans and animals is relatively well known, while literature data on its transformations in the soil environment are scarce.

Entomopathogenic fungi and filamentous fungi of the genus *Fusarium* coexist not only in the soil environment. Many species of entomopathogenic fungi are known endophytes of plants, such as wheat, barley or maize, which are particularly exposed to contamination with toxins of *Fusarium* metabolism. The aim of this study was to evaluate the potential of entomopathogenic fungi of the genus *Cordyceps* to eliminate *Fusarium* mycotoxin – zearalenone.

The research was based on determining the growth kinetics of three strains of *Cordyceps* fungi from the international collection of entomopathogenic fungi, i.e. *C. fumosorosea* ARSEF2679, *C. farinosa* ARSEF1939 and *C. tenuipes* ARSEF2488, and assessing the effect of zearalenone at concentrations of 0.5 and 1 mg L<sup>-1</sup> on the growth of these microorganisms during 120 hours of cultivation. The mycotoxin had no negative effect on the biomass of the tested fungi, but they differed in their growth kinetics. The fastest growing strain was *C. fumosorosea*. The strains *C. farinosa* and *C. tenuipes* grew 28 and 53% slower than *C. fumosorosea* at 12 hours of incubation, respectively. The growth rate of the tested *Cordyceps* strains was reflected in the rate of zearalenone removal from the growth medium. Quantitative analysis of zearalenone residues in post-culture extracts was carried out using the technique of liquid chromatography coupled with mass spectrometry LC-MS/MS, in the Multiple Reaction Monitoring scanning mode. A complete elimination of mycotoxin at the concentration of 0.5 mg L<sup>-1</sup> was noted in *C. fumosorosea*, *C. farinosa* and *C. tenuipes* at 48, 72 and 96 hours of incubation, respectively, while at twice higher dose, the effect of complete removal of mycotoxin shifted on average by another day. The obtained results proved that entomopathogenic fungi of the genus *Cordyceps* can be used not only as bioinsecticides, but also as microbiological agents eliminating environmental pollutants, such as zearalenone.

## Konserwanty – toksyczne mikrozanieczyszczenia?

**M. Nowak-Lange, K. Niedziałkowska, A. Tończyk, D. Trójkowska, K. Lisowska**

*Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,  
Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź  
e-mail: marta.nowak@biol.uni.lodz.pl*

*Słowa kluczowe: ekotoksyczność, konserwanty, produkty higieny osobistej, mikrozanieczyszczenia, bioindykatory*

W literaturze naukowej szeroka gama nowo identyfikowanych i niebezpiecznych substancji organicznych, o nieokreślonym ryzyku dla zdrowia ludzi i środowiska, opisana jest mianem „contaminants of emerging concenr (CECs)” (Garcia-Fernández, 2020). Te potencjalnie niebezpieczne substancje wykrywane są w różnych matrycach środowiskowych, takich jak powietrze, woda, czy gleba. Pomimo, że są to mikrozanieczyszczenia występujące w środowisku w bardzo niskich stężeniach, to charakteryzują się wysoką aktywnością biologiczną, potencjałem do bioakumulacji oraz niską podatnością na degradację.

Sz szczególnie niebezpieczną grupę zanieczyszczeń stanowią konserwanty wykorzystywane w produktach higieny osobistej, ponieważ, podobnie jak farmaceutyki, zostały opracowane w celu wywoływania konkretnych efektów biologicznych. Wiele z tych związków nie podlega rozkładowi na etapie oczyszczania ścieków, co przyczynia się do zanieczyszczenia środowiska. Oczyszczone ścieki są bowiem zrzucane do wód powierzchniowych, takich jak np. rzeki, jeziora. Mogą być także wykorzystywane do nawadniania pól na terenach zagrożonych suszą. Ponadto, wiele substancji wykazuje tendencję do bioakumulacji w osadach ściekowych, które często stosowane są do nawożenia terenów rolniczych, stanowiąc kolejne źródło zanieczyszczenia środowiska nie tylko substancjami konserwującymi, ale także innymi ksenobiotykami (Chopra i Kumar 2018). Niebezpieczeństwo, wynikające z przedostawania się biocydów do środowiska naturalnego, stwarza potrzebę analizy stężeń środowiskowych, oceny potencjalnej toksyczności oraz poznania ich losów środowiskowych, a także metod eliminacji tych związków.

Do badań wybrano konserwanty z grupy związków chloroorganicznych, izotiazolinonów oraz czwartorzędowych związków amonowych. Chloroksylenol (4-chloro-3,5-dimetylofenol; PCMX) wykorzystywany jest w produktach, takich jak płyny do dezynfekcji, mydła w płynie i roztwory stosowane w szpitalach do odkażania narzędzi chirurgicznych (Bruch 1996). Związek ten wykazuje aktywność przeciwko bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym, grzybom, algom oraz wirusom. Główny mechanizm działania PCMX polega na zaburzeniu funkcjonalności białek błonowych oraz zmianie przepuszczalności osłon komórkowych (Poger i Mark 2019). Metyloizotiazolinon (2-metylo-4-izotiazolin-3-on, MIT) i benzitoziazolinon (1,2-Benzohiazolin-3(2H)-on, BIT) są konserwantami powszechnie wykorzystywanymi w produktach ochrony indywidualnej i chemii gospodarczej, należącymi do grupy izotiazolinonów. Związki te charakteryzują się doskonałymi właściwościami przeciwdrobnoustrojowymi wobec bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych oraz grzybów strzępkowych. Chlorek benzalkoniowy (BAC) należy do grupy czwartorzędowych związków amoniowych, które stanowią główną klasę kationowych środków powierzchniowo czynnych. BAC stosowany jest jako dodatek do środków dezynfekujących, przeciwdrobnoustrojowych oraz jako detergent.

Celem niniejszej pracy było określenie toksyczności wybranych konserwantów stosowanych w produktach ochrony indywidualnej wobec organizmów wskaźnikowych.

Toksyczność badanych konserwantów oceniono wobec skorupiaków *Daphnia magna* z wykorzystaniem komercyjnie dostępnych testów toksyczności (DaphtoxKit F) oraz wobec bakterii (*Pseudomonas putida*, *Bacillus subtilis*) i grzybów strzępkowych (*Trichoderma* sp.) bytujących w glebie, pochodzących z kolekcji DSM oraz Katedry Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii UŁ. Oceniono także wpływ testowanych ksenobiotyków na produkcję kwasu indolo-3-octowego (IAA) przez bakterie i grzyby strzępkowe.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż testowane konserwanty wykazują działanie toksyczne wobec badanych bioindykatorów. Stwierdzono, że inhibicja wzrostu wszystkich badanych mikroorganizmów skorelowana jest ze wzrostem stężenia ksenobiotyku, a najbardziej toksycznymi substancjami były konserwanty z grupy izotiazolinonów. Zaobserwowano również zwiększoną śmiertelność skorupiaków *D. magna* w obecności badanych substancji. Bakterie oraz grzyby strzępkowe, bytujące w glebie, charakteryzują się zdolnością do syntetyzowania hormonów roślinnych, stymulujących wzrost oraz wspomagających mechanizmy obronne roślin. Jednym z przykładów fitohormonów są auksyny, których produkcja może być hamowana w odpowiedzi na obecność substancji toksycznych w środowisku wzrostu bakterii glebowych. Zaobserwowano inhibicję produkcji fitohormonu przez mikroorganizmy glebowe wraz ze wzrostem stężenia badanych ksenobiotyków. Podsumowując można stwierdzić, że masowe wykorzystanie konserwantów i ich niekontrolowane uwalnianie do środowiska przyrodniczego może stanowić poważne zagrożenie dla prawidłowego funkcjonowania różnych ekosystemów.



## Preservatives – toxic micropollutants?

**M. Nowak-Lange, K. Niedziałkowska, A. Tończyk, D. Trójkowska, K. Lisowska**

*Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, Banacha Street 12/16, 90–237 Lodz  
e-mail: marta.nowak@biol.uni.lodz.pl*

*Keywords: ecotoxicity, preservatives, personal care products, micropollutants, bioindicators*

In the scientific literature, a wide range of newly identified and hazardous organic substances with undetermined risks to human health and the environment are described as “contaminants of emerging concern (CECs)” (Garcia-Fernández, 2020). These potentially dangerous substances are detected in various environmental matrices such as air, water and soil. Despite the fact that they are micropollutants present in the environment in very low concentrations, they are characterized by high biological activity, the potential for bioaccumulation and low susceptibility to degradation.

Preservatives used in personal care products are a particularly dangerous group of contaminants because, like pharmaceuticals, they have been developed to produce specific biological effects. Many of these compounds are not degraded at the wastewater treatment stage, which contributes to environmental pollution. The treated sewage is discharged to surface waters, such as rivers and lakes. They can also be used to irrigate fields in drought-prone areas. In addition, many substances tend to bioaccumulate in sewage sludge, which is often used to fertilize agricultural areas, constituting another source of environmental pollution not only with preservatives but also with other xenobiotics (Chopra and Kumar 2018). The danger resulting from the release of biocides into the natural environment creates the need to analyze environmental concentrations, assess potential toxicity and learn about their environmental fate, as well as methods for eliminating these compounds.

Preservatives from the group of organochlorine compounds, isothiazolinones and quaternary ammonium compounds were selected for the study. Chloroxylenol (4-chloro-3,5-dimethylphenol; PCMX) is used in products such as disinfectants, liquid soaps and solutions used in hospitals to decontaminate surgical instruments (Bruch 1996). This compound is active against gram-positive and gram-negative bacteria, fungi, algae and viruses. The main mechanism of action of PCMX consists in disrupting the functionality of membrane proteins and changing the permeability of cell sheaths (Poger and Mark 2019). Methylisothiazolinone (2-methyl-4-isothiazolin-3-one, MIT) and benzisothiazolinone (1,2-Benzothiazol-3(2H)-one, BIT) are preservatives commonly used in personal protection products and household chemicals, belonging to the group of isothiazolinones. These compounds are characterized by excellent antimicrobial properties against Gram-positive and Gram-negative bacteria and filamentous fungi. Benzalkonium chloride (BAC) belongs to the group of quaternary ammonium compounds, which constitute the main class of cationic surfactants. BAC is used as an additive to disinfectants, antimicrobial agents, and detergent.

The aim of this study was to determine the toxicity of selected preservatives used in personal protective products against indicator organisms.

The toxicity of the tested preservatives was assessed against *Daphnia magna* crustaceans using commercially available toxicity tests (DaphtoxKit F) and against soil bacteria (*Pseudomonas putida*, *Bacillus subtilis*) and filamentous fungi (*Trichoderma* sp.) from the DSM



collection and the Department of Industrial Microbiology and Biotechnology of the University of Lodz. The influence of the tested xenobiotics on the production of indole-3-acetic acid (IAA) by bacteria and filamentous fungi was also assessed.

Based on the obtained results, it was found that the tested preservatives have a toxic effect on the tested bioindicators. It was found that inhibition of the growth of all tested microorganisms is correlated with an increase in the concentration of xenobiotics, and the most toxic substances were preservatives from the group of isothiazolinones. Increased crustacean mortality has also been observed *D. magna* in the presence of the test substances. Bacteria and filamentous fungi living in the soil are characterized by the ability to synthesize plant hormones that stimulate growth and support plant defense mechanisms. One example of phytohormones is auxins, which can be inhibited in response to the presence of toxic substances in the growth environment of soil bacteria. The inhibition of phytohormone production by soil microorganisms was observed with the increase in the concentration of the tested xenobiotics. To sum up, it can be concluded that the massive use of preservatives and their uncontrolled release into the natural environment may pose a serious threat to the proper functioning of various ecosystems.

## Ocena wpływu cieczy jonowych na rośliny

**B. Pawłowska, D. Wojtala, R. Biczak**

Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. J. Długosza w Częstochowie, al. Armii Krajowej 13/15, 42–200 Częstochowa  
e-mail: b.pawlowska@ujd.edu.pl

*Słowa kluczowe: chlorek tetrabutylamoniowy, fitotoksyczność, ogórek, pszenica*

Ciecze jonowe (ILs) to jedna ze stosunkowo nowych grup związków, które charakteryzują się olbrzymimi możliwościami wykorzystania w różnych gałęziach przemysłu i rolnictwie. Początkowo ILs były traktowane jako „zielone rozpuszczalniki”, bezpieczne dla środowiska, przez co miały stanowić alternatywę dla tradycyjnie stosowanych rozpuszczalników organicznych. Jednak w toku prowadzonych prac, bardzo szybko okazało się, że wiele z tych związków wykazuje toksyczność w stosunku do różnych elementów środowiska naturalnego. Oddziaływanie ILs na środowisko w przypadku niektórych z tych związków jest większe niż w przypadku tradycyjnie stosowanych rozpuszczalników organicznych. Jednak ze względu na fakt, że związki te można tak projektować, aby dobierając odpowiednio kation i anion uzyskać substancje, które będą posiadały pożądane właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne, w obrocie pojawiają się ciągle nowe ciecze jonowe. Obecnie w dostępnej literaturze można znaleźć doniesienia o toksyczności cieczy jonowych dla mikroorganizmów, grzybów, glonów, planktonu, bezkręgowców, kręgowców oraz roślin wyższych.

W niniejszej pracy zbadano wpływ chlorku tetrabutylamoniowego [TBA][Cl] wprowadzonego do gleby, na wczesne fazy wzrostu i rozwoju roślin lądowych. W tym celu wybrano dwa gatunki roślin – pszenicę (*Triticum aestivum* L.) i ogórek (*Cucumis sativus* L.), których nasiona wysiano w doniczkach zawierających glebę, do której dodano badany związek chemiczny w różnych stężeniach: 1, 10, 100, 400, 700 i 1000 mg · kg<sup>-1</sup> s.m. gleby oraz w doniczkach z glebą kontrolną.

W celu określenia fitotoksyczności ILs oznaczono wschody, plon świeżej masy, inhibicję wzrostu roślin i ich korzeni oraz zawartość suchej masy roślin. Na podstawie inhibicji plonu oraz długości korzeni i części nadziemnych roślin obliczono także wartości EC<sub>50</sub>. Przeprowadzono jednocześnie wizualną ocenę wszelkiego rodzaju uszkodzeń gatunków testowych, takich jak zahamowanie wzrostu, chloroza i nekroza, które udokumentowano na fotografiach cyfrowych.

Z przeprowadzonych badań wynika, że dodanie [TBA][Cl] do gleby powoduje inhibicję wzrostu roślin i ich korzeni, spadek plonu świeżej masy roślin oraz wzrost zawartości suchej masy w roślinach. Rośliną bardziej wrażliwą na badaną ILs był ogórek. Wszystkie zaobserwowane zmiany były silnie uzależnione od zastosowanego stężenia związku.



## Evaluation of the effect of ionic liquids on plants

**B. Pawłowska, D. Wojtala, R. Biczak**

Jan Długosz University in Częstochowa, 13/15 Armii Krajowej Av., 42–200 Częstochowa  
e-mail: b.pawlowska@ujd.edu.pl

*Keywords: tetrabutylammonium chloride, phytotoxicity, cucumber, wheat*

Ionic liquids (ILs) are one of a relatively new group of compounds with tremendous potential for use in various industries and agriculture. Initially, ILs were touted as “green solvents,” environmentally safe, by which they were intended to be an alternative to traditionally used organic solvents. However, in the course of ongoing work, it very quickly became apparent that many of these compounds exhibit toxicity to various environmental elements. The environmental impact of ILs for some of these compounds is greater than that of traditionally used organic solvents. However, due to the fact that these compounds can be designed in such a way that, by selecting the cation and anion appropriately, substances with the desired physical, chemical and biological properties can be obtained, new ionic liquids are constantly appearing on the market. Currently, the available literature contains reports of toxicity of ionic liquids to microorganisms, fungi, algae, plankton, invertebrates, vertebrates and higher plants.

In the present study, we investigated the effects of tetrabutylammonium chloride [TBA][Cl] introduced into the soil, on the early stages of growth and development of terrestrial plants. For this purpose, two plant species were selected – wheat (*Triticum aestivum* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.), the seeds of which were sown in pots containing soil to which the tested chemical compound was added at different concentrations: 1, 10, 100, 400, 700 and 1000 mg kg<sup>-1</sup> of soil DW, as well as in pots with control soil.

To determine the phytotoxicity of ILs, emergence, fresh weight yield, plant and root growth inhibition and plant dry matter content were determined. EC<sub>50</sub> values were also calculated on the basis of yield inhibition and the length of roots and above-ground parts of plants. At the same time, a visual assessment of all kinds of damage to the test species was carried out, such as growth inhibition, chlorosis and necrosis, which were documented on digital photographs.

The study shows that the addition of [TBA][Cl] to the soil causes inhibition of plant growth and roots, a decrease in plant fresh weight yield and an increase in plant dry matter content. The plant more sensitive to the ILs tested was cucumber. All observed changes were strongly dependent on the applied concentration of the compound.

## Fenantren jako zagrożenie dla jakości wód rzeki Pilicy oraz przykłady jego biodegradacji

**D. Piwowarska<sup>1,2,3</sup>, E. Kiedrzyńska<sup>3,2</sup>, M. Kiedrzyński<sup>4,3</sup>**

<sup>1</sup> Uniwersytet Łódzki, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

<sup>2</sup> Uniwersytet Łódzki, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

<sup>3</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Tylna 3, 90–364 Łódź

<sup>4</sup> Uniwersytet Łódzki, Katedra Biogeografii, Paleoekologii i Ochrony Przyrody, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

e-mail: dominika.piwowarska@edu.uni.lodz.pl

*Słowa kluczowe: ksenobiotyki, fenantren, Pilica, biodegradacja*

Zanieczyszczenia pochodzenia antropogenicznego takie jak ksenobiotyki stanowią obecnie jedno z największych zagrożeń dla środowiska oraz ekosystemów wodnych. Intensywny rozwój przemysłu i urbanizacja, stosowanie ksenobiotyków – syntetycznych substancji chemicznych, a także ich nieefektywne usuwanie w procesie oczyszczania ścieków sprawiają, że substancje te w dużych ilościach trafiają do środowiska i pozostają w nim przez długi czas, wpływając szkodliwie na organizmy żywe (Piwowarska & Kiedrzyńska, 2022). Wśród zanieczyszczeń ksenobiotycznych wymienia się takie grupy substancji jak: farmaceutyki i środki higieny osobistej (PPCPs), pestycydy, barwniki, polichlorowane bifenyle (PCB) oraz związki fenolowe, a także wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) (Dordio & Carvalho, 2013).

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, powstają podczas procesów pirolizy oraz pirosyntezy w trakcie niecałkowitego spalania węgla, ropy, drewna i produktów ropopochodnych (Dat & Chang, 2017). Obawy dotyczące dostania się WWA do środowiska wodnego związane są z ich wysoką toksycznością wynikającą z niskiej masy cząsteczkowej. WWA po dostaniu się do organizmów żywych, nie tylko ulegają bioakumulacji w ich tkankach oraz narządach, ale również wywołują mutagenizację oraz kancerogenezę (Kubiak 2013, HELCOM 2021). Jednym z najczęściej wykrywanych w środowisku WWA, zwłaszcza w miejscach narażonych na zanieczyszczenia olejem przemysłowym, smołą węglową oraz ściekami drukarskimi i farbiarskimi jest fenantren (PHE) (Liu et al., 2016). Związek ten jest wykorzystywany także w produkcji barwników oraz materiałów wybuchowych. Fenantren posiada właściwości toksyczne objawiające się zarówno zatruciami ostrymi, jak i chronicznymi, oraz właściwości alergizujące, a także wywołuje zmiany dermatologiczne. PHE wykrywany jest nie tylko w powietrzu, ale też w wodzie wodociągowej, wodach powierzchniowych oraz osadach jeziornych i ściekowych (Bojakowska, 2003). Jako jeden z najczęściej identyfikowanych WWA w środowisku wodnym bardzo często jest przedmiotem badań dotyczących jego eliminacji i biodegradacji WWA, a jego toksyczność i trwałość w środowisku sprawiają, że związek ten jest również kluczowym elementem w badaniach bioremediacyjnych (Zhang et al., 2019, Waigi et al., 2015).

Zdolność WWA, w tym PHE, do ulegania biodegradacji jest ściśle związana z budową ich cząsteczek. Udowodniono, że biodegradacja związków posiadających większą liczbę pierścieni aromatycznych jest procesem złożonym i przebiegającym znacznie wolniej niż w przypadku związków o mniejszej liczbie pierścieni. Ponadto, duże znaczenie w procesach rozkładu ma obecność różnych grup funkcyjnych (Zabłocka-Godlewska & Przysaś, 2016). Uważa się, że im

więcej grup funkcyjnych posiada dany związek, tym jest on trudniej biodegradowalny. Jest to związane z liczbą ataków enzymatycznych, do których musi dojść w celu rozszczepienia tych grup (Wackett & Ellis, 1999). W związku z tym, że poszczególne drobnoustroje są zdolne do metabolizowania jedynie ograniczonego zakresu substratów, w większości przypadków, aby doszło do pełnej mineralizacji złożonego związku, potrzebne jest konsorcjum mikroorganizmów (Ghazali et al., 2004). Fenantren będąc przykładem substancji sklasyfikowanej przez amerykańską Agencję Ochrony Środowiska jako zanieczyszczenie priorytetowe, stale szeroko wykorzystywany jest w badaniach zdolności biodegradacyjnych drobnoustrojów (Waigi et al., 2015).

Celem pracy jest 1/ zaprezentowanie udziału zakładów przemysłowych i oczyszczalni komunalnych w uwalnianiu do środowiska fenantrenu wraz z odprowadzanymi ściekami, 2/ określenie wpływu oczyszczalni na jakość wody w zlewni Pilicy, a także 3/ zaprezentowanie najnowszych doniesień naukowych dotyczących biodegradacji PHE. Badania pilotażowe prowadzono w latach 2022/2023. Wykazały one obecność PHE niemal we wszystkich badanych próbach pobranych tj. z 17 oczyszczalni ścieków komunalnych, 4 zakładów przemysłowych oraz 7 stanowisk z rzeki Pilicy. Średnie stężenie fenantrenu w badanych próbach wyniosło 0,026 µg/L dla ścieków oczyszczonych pochodzących z oczyszczalni komunalnych, 0,019 µg/L dla ścieków oczyszczonych pochodzących z zakładów przemysłowych oraz 0,012 µg/L dla wody rzecznej. Stężenia PHE dla nich wahały się odpowiednio w granicach 0,0063–0,0973 µg/L dla ścieków komunalnych, 0,0087–0,0443 µg/L dla zakładów przemysłowych i 0,0070–0,0177 µg/L dla wody rzecznej.

Wyniki badań wskazują na problem związany z zanieczyszczeniem środowiska wodnego zlewni Pilicy substancjami toksycznymi oraz konieczność prowadzenia badań i opracowania rozwiązań z zakresu biotechnologii ekohydrologicznych dla biodegradacji tych toksycznych substancji a także konieczności bioremediacji środowiska. W związku z tym, że nadal brakuje holistycznych badań obejmujących swoim zasięgiem całe zlewnie rzeczne, badania prowadzone w zlewni Pilicy stanowią cenny materiał pod względem dostarczania nowej wiedzy dotyczącej wpływu zakładów przemysłowych i zakładów gospodarki komunalnej na występowanie zanieczyszczeń antropogenicznych w rzece oraz na zanieczyszczenie tymi substancjami Wisły oraz Morza Bałtyckiego.

*Badania prowadzone w ramach projektu Narodowego Centrum Nauki, Opus 22 – Projekt FARMIKRO nr 2021/43/B/ST10/01076, kierownik projektu: dr hab. Edyta Kiedrzyńska, prof. ERCE PAN.*

## Literatura

1. Bojakowska, I. (2003). *Charakterystyka wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i ich występowanie w środowisku*. Biuletyn Państwowego Instytutu Geologicznego, 405, 5–27.
2. Dat N. D., Chang M. B. (2017). *Review on characteristics of PAHs in atmosphere, anthropogenic sources and control technologies*. Science of the total environment, 609, 682–693.
3. Dordio A. V., Carvalho A. J. P., 2013. *Organic xenobiotics removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of the support matrix*. Journal of Hazardous materials, 252, 272–292.
4. xenobiotics (pp. 1–18). Springer, Singapore.
5. Ghazali F. M., Rahman R. N. Z. A., Salleh A. B., Basri M. (2004) *Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium*. International Biodeterioration & Biodegradation, 54(1), 61–67.

6. Kubiak M. S. (2013) *Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA)–ich występowanie w środowisku i w żywności*. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 94(1), 31–36
7. Liu, W., Cai, Z., Zhao, X., Wang, T., Li, F., & Zhao, D. (2016). *High-capacity and photoregenerable composite material for efficient adsorption and degradation of phenanthrene in water*. *Environmental Science & Technology*, 50(20), 11174–11183.
8. Piwowarska, D., & Kiedrzyńska, E. (2022). *Xenobiotics as a contemporary threat to surface waters*. *Ecohydrology & Hydrobiology*., Vol. 22, Is., pp. 337–354
9. Wackett L. P., Ellis L. B. (1999) *Predicting biodegradation*. *Environmental Microbiology*, 1(2), 119–12
10. Waigi, M. G., Kang, F., Goikavi, C., Ling, W., & Gao, Y. (2015). *Phenanthrene biodegradation by sphingomonads and its application in the contaminated soils and sediments: a review*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 104, 333–349.
11. Zabłocka-Godlewska E., Przystaś W. (2016) *Badania screeningowe bakterii wykazujących zdolność do dekoloryzacji barwników syntetycznych*. *Archiwum Gospodarki Odpadami i Ochrony Środowiska*, 18(4).
12. Zhang, J., Li, R., Ding, G., Wang, Y., & Wang, C. (2019). *Sorptive removal of phenanthrene from water by magnetic carbon nanomaterials*. *Journal of Molecular Liquids*, 293, 111540.



## Phenanthrene as a threat to the water quality of the Pilica River and examples of its biodegradation

**D. Piwowarska<sup>1,2,3</sup>, E. Kiedrzyńska<sup>3,2</sup>, M. Kiedrzyński<sup>4,3</sup>**

<sup>1</sup> *Doctoral School of Extract and Natural Sciences, University of Lodz, Banacha 12/16, 90–237 Lodz*

<sup>2</sup> *UNESCO Chair on Ecohydrology and Applied Ecology, University of Lodz, 12/16 Banacha, 90–237 Lodz*

<sup>3</sup> *European Regional Centre for Ecohydrology of the Polish Academy of Sciences, 3 Tylna, 90–364 Lodz*

<sup>4</sup> *Department of Biogeography, Paleocology and Nature Conservation, University of Lodz, Banacha 12/16, 90–237 Lodz*

*e-mail: dominika.piwowarska@edu.uni.lodz.pl*

*Keywords: xenobiotics, phenanthrene, Pilica River, biodegradation*

Contaminants of anthropogenic origin, such as xenobiotics, are currently one of the greatest threats to the environment and aquatic ecosystems. Intensive development of industry and urbanization, the use of xenobiotics – synthetic chemical substances, as well as their ineffective removal in the wastewater treatment process cause that these substances enter the environment in large quantities and remain in it for a long time, having a harmful effect on living organisms (Piwowarska & Kiedrzyńska, 2022). Xenobiotic pollutants include groups of substances such as: pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), pesticides, dyes, polychlorinated biphenyls (PCBs) and phenolic compounds, as well as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (Dordio & Carvalho, 2013).

Polycyclic aromatic hydrocarbons are formed during pyrolysis and pyrosynthesis processes during incomplete combustion of coal, oil, wood and petroleum products (Dat & Chang, 2017). Concerns about PAHs getting into the aquatic environment are related to their high toxicity resulting from their low molecular weight. After getting into living organisms, PAHs not only bioaccumulate in their tissues and organs, but also cause mutagenization and carcinogenesis (Kubiak 2013; HELCOM 2021). One of the most frequently detected PAHs in the environment, especially in places exposed to contamination with industrial oil, coal tar and printing and dyeing wastewater, is phenanthrene (PHE) (Liu et al., 2016). This compound is also used in the production of dyes and explosives. Phenanthrene has toxic properties, manifested by both acute and chronic poisoning, as well as allergenic properties, and also causes dermatological changes. PHE is detected not only in the air, but also in tap water, surface waters and lake and sewage sediments (Bojakowska, 2003). As one of the most frequently identified PAHs in the aquatic environment, it is very often the subject of research on its elimination and biodegradation of PAHs, and its toxicity and persistence in the environment make this compound a key element in bioremediation studies (Zhang et al., 2019; Waigi et al., 2015).

The ability of PAHs, including PHE, to undergo biodegradation is closely related to the structure of their molecules. It has been proven that the biodegradation of compounds with a larger number of aromatic rings is a complex process and proceeds much slower than in the case of compounds with a smaller number of rings. In addition, the presence of various functional groups is of great importance in the decomposition processes (Zabłocka-Godlewska & Przystaś, 2016). It is believed that the more functional groups a given compound has, the

less biodegradable it is. This is related to the number of enzymatic attacks that must occur in order to cleave these groups (Wackett & Ellis, 1999). Since individual microorganisms are only able to metabolize a limited range of substrates, in most cases a consortium of microorganisms is needed for complete mineralization of a complex compound (Ghazali et al., 2004). Phenanthrene, being an example of a substance classified by the US Environmental Protection Agency as a priority pollutant, is still widely used in research on the biodegradability of microorganisms (Waigi et al., 2015).

The aim of the work is: 1/ to present the share of industrial plants and municipal treatment plants in the release of phenanthrene into the environment along with discharged sewage, 2/ to determine the impact of the treatment plants on water quality in the Pilica River catchment, and 3/ to present the latest scientific reports on the biodegradation of PHE. Studies were conducted in particular seasons 2022/2023 (Spring, Summer, Autumn, Winter). The research showed the presence of PHE in almost all tested samples taken from 17 municipal wastewater treatment plants, 4 industrial plants and 7 sites from the Pilica River. The average concentration of phenanthrene in the tested samples was 0.026 µg/L for treated wastewater from municipal treatment plants, 0.019 µg/L for treated wastewater from industrial plants and 0.012 µg/L for river water. PHE concentrations for them ranged from 0.0063–0.0973 µg/L for municipal sewage, 0.0087–0.0443 µg/L for industrial plants and 0.0070–0.0177 µg/L for river water, respectively.

The research results indicate the problem of polluting the water environment of the Pilica River basin with toxic substances. Therefore, it is necessary to conduct research and develop solutions in the field of ecohydrological biotechnology for the biodegradation of these toxic substances, as well as bioremediation of the environment. Due to the fact that there is still a lack of holistic research covering the entire river basin, the research conducted in the Pilica River basin is valuable material in terms of providing new knowledge on the impact of industrial and municipal wastewater treatment plants on water quality in the river and on the contamination of the Vistula River and the Baltic Sea.

*The research was conducted as part of the project of the Polish National Science Centre, Opus 22 – Project FARMIKRO, no. 2021/43/B/ST10/01076, project manager: Edyta Kiedrzyńska, professor ERCE PAS.*

## References

1. Bojakowska, I. (2003). *Charakterystyka wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i ich występowanie w środowisku*. Biuletyn Państwowego Instytutu Geologicznego, 405, 5–27.
2. Dat N. D., Chang M. B. (2017). *Review on characteristics of PAHs in atmosphere, anthropogenic sources and control technologies*. Science of the total environment, 609, 682–693.
3. Dordio A. V., Carvalho A. J. P., 2013. *Organic xenobiotics removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of the support matrix*. Journal of Hazardous materials, 252, 272–292.
4. xenobiotics (pp. 1–18). Springer, Singapore.
5. Ghazali F. M., Rahman R. N. Z. A., Salleh A. B., Basri M. (2004) *Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium*. International Biodeterioration & Biodegradation, 54(1), 61–67.
6. Kubiak M. S. (2013) *Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) – ich występowanie w środowisku i w żywności*. Problemy Higieny i Epidemiologii, 94(1), 31–36
7. Liu, W., Cai, Z., Zhao, X., Wang, T., Li, F., & Zhao, D. (2016). *High-capacity and photoregenerable composite material for efficient adsorption and degradation of phenanthrene in water*. Environmental Science & Technology, 50(20), 11174–11183.



8. Piwowarska, D., & Kiedrzyńska, E. (2022). *Xenobiotics as a contemporary threat to surface waters*. *Ecohydrology & Hydrobiology*, Vol. 22, Is., pp. 337–354
9. Wackett L. P., Ellis L. B. (1999) *Predicting biodegradation*. *Environmental Microbiology*, 1(2), 119–120
10. Waigi, M. G., Kang, F., Goikavi, C., Ling, W., & Gao, Y. (2015). *Phenanthrene biodegradation by sphingomonads and its application in the contaminated soils and sediments: a review*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 104, 333–349.
11. Zabłocka-Godlewska E., Przystaś W. (2016) *Badania screeningowe bakterii wykazujących zdolność do dekoloryzacji barwników syntetycznych*. *Archiwum Gospodarki Odpadami i Ochrony Środowiska*, 18(4).
12. Zhang, J., Li, R., Ding, G., Wang, Y., & Wang, C. (2019). *Sorptive removal of phenanthrene from water by magnetic carbon nanomaterials*. *Journal of Molecular Liquids*, 293, 111540.



## Bioremediacja suszy z wykorzystaniem bakterii o potencjale biostymulacji wzrostu i rozwoju roślin uprawnych

S. Siebielec, G. Siebielec, M. Woźniak

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24–100 Puławy*

*e-mail: ssiebielec@iung.pulawy.pl*

*Słowa kluczowe: susza, roślina, remediacja, bakterie, nośnik, bionawóz*

Coraz częstsze i bardziej intensywne zjawiska suszy w rolnictwie mają wpływ na rozwój i plonowanie roślin, ale również na życie biologiczne w glebie. Długotrwała susza powoduje wyraźne straty plonu u wrażliwych roślin, może mieć również znaczący wpływ na aktywność i strukturę populacji mikroorganizmów w glebie, a zatem również na tempo procesów krążenia węgla i składników nawozowych oraz emisję gazów cieplarnianych z gleby.

**Celem głównym projektu INNO-MIK** jest opracowanie technologii wytwarzania bionawozów na bazie odpadów organicznych i bakterii, wspomagających zrównoważony rozwój produkcji roślinnej, szczególnie w odniesieniu do przeciwdziałania suszy, jako wsparcie dla rozwoju gospodarki odpadami w cyklu zamkniętym oraz strategii adaptacji i mitygacji zmian klimatu w rolnictwie. Opracowane zostaną technologie otrzymywania trzech rodzajów bionawozów na bazie: płynnego pofermentu, kompostu i biowęgla o wysokiej zawartości fitohormonów. Bionawozy będą nośnikami mikroorganizmów wspomagających rozwój roślin w warunkach suszy.

Jak dotychczas zrealizowano następujące cele szczegółowe projektu prowadzące do osiągnięcia celu głównego: ocena efektywności wstępnie wyselekcjonowanych bakterii we wspomaganiu rozwoju roślin w warunkach suszy rolniczej wraz z określeniem mechanizmów wspomagania roślin oraz wybór optymalnego składu inokulum dla wspomagania roślin w warunkach suszy. Były to kluczowe etapy dla możliwości realizacji dalszych kroków w opracowaniu technologii wytwarzania bionawozów, zgodnie z przyjętym planem prac. Zespół realizujący projekt INNO-MIK przeprowadził liczne testy laboratoryjne szczepów bakterii, służące do zakwalifikowania ich do grupy PGPB (z ang. Plant Growth Promoting Bacteria). Zdolność bakterii do biostymulacji wzrostu i rozwoju roślin oceniono m.in. w oparciu o: zdolność do syntezy fitohormonów; zdolność do produkcji sideroforów; zdolność do solubilizacji fosforanów; zdolność do wiązania azotu atmosferycznego, produkcji deaminazy ACC, biofilmu oraz egzopolisacharydów. Określano również profil metaboliczny wytypowanych szczepów potencjalnie promujących wzrost roślin, który został wykonany w oparciu o płytki BIOLOG GEN III MicroPlates (oceniając zdolność do metabolizowania źródeł węgla i wrażliwości chemicznej).

Przedmiotem badań były szczepy bakteryjne wyizolowane z ryzosfery roślin porastających składowiska odpadów pohutniczych silnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi o niezwykle trudnych warunkach wodnych, jak i spod roślin na gruntach ornych z systemów konwencjonalnych i ekologicznych. Zdolność do solubilizacji fosforanów przeprowadzono z zastosowaniem podłoża dla drobnoustrojów rozpuszczających fosforany według metody Pikovskaya, 1948. Na pożywce wykonywano posiew punktowy bakterii za pomocą sterylnej ezy bakteriologicznej. Po 14 dniach inkubacji w temp. 28°C mierzono średnicę kolonii bakterii oraz stref przejaśnień, które powstały w wyniku uwolnienia fosforu z jego nierozpuszczalnej soli  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Zdolność poszczególnych mikroorganizmów do solubilizowania fosforanów została oceniona na podstawie wskaźnika solubilizacji (SI) wg wzoru opisywanego w literaturze naukowej. Analiza

wykazała, iż nasze bakterie posiadają zróżnicowaną zdolność do solubilizacji fosforanów, co pozwoliło na wytypowanie szczepów do dalszych testów (maksymalna strefa przejaśnień wynosiła 4 SI).

Stosowanie bakterii solubilizujących fosforany niewątpliwie stanowi atrakcyjną metodę zwiększania skuteczności bioremediacji. Wynika to między innymi z ich potencjału do promowania wzrostu i rozwoju roślin w warunkach stresu abiotycznego oraz wspomnianych zdolności uruchamiania słabo rozpuszczalnych form fosforu. Bakterie te często posiadają również inne cenne mechanizmy promowania wzrostu roślin co przy często ograniczonych możliwościach nawożenia oraz ekstremalnych zjawiskach pogodowych jest słuszną alternatywą sięgającą jednocześnie do podstaw zrównoważonego rolnictwa i rozwiązań opartych na naturze.

*Projekt finansowany w ramach konkursu Lider XII Narodowego Centrum Badań i Rozwoju; Nr LIDER/36/0184/L-12/20/NCBR/2021.*



## **Bioremediation of drought with the use of bacteria with the potential to biostimulate the growth and development of crops**

**S. Siebielec, G. Siebielec, M. Woźniak**

*Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, ul. Czartoryskich 8, 24–100 Puławy*

*e-mail: ssiebielec@iung.pulawy.pl*

*Keywords: drought, plant, remediation, bacteria, carrier, biofertilizer*

More and more frequent and intense droughts in agriculture affect the development and yield of plants, but also the biological life in the soil. Long-term drought causes significant yield losses for sensitive plants, and may also have a significant impact on the activity and structure of the population of microorganisms in the soil, and therefore also on the rate of carbon and fertilizer cycling processes and greenhouse gas emissions from the soil.

**The main objective of the project INNO-MIK** is to develop technology of biofertiliser production based on biodegradable waste and microorganisms, supporting development of sustainable crop production, especially to counteract drought conditions, as support for waste circular management and adaptation and mitigation to climate change. The technologies for producing three types of biofertilizers based on liquid digestate, compost and biochar and containing high level of phytohormones will be developed. Biofertilizers will be carriers of microorganisms supporting plant growth in drought conditions.

So far, the following specific objectives of the project have been achieved leading to the achievement of the main objective: assessment of the effectiveness of pre-selected bacteria in supporting plant development in conditions of agricultural drought, together with the determination of plant support mechanisms and selection of the optimal inoculum composition to support plants in drought conditions. These were the key stages for the possibility of implementing further steps in the development of technology for the production of biofertilizers, in accordance with the adopted work plan. The INNO-MIK project team conducted numerous laboratory tests of bacterial strains to qualify them to the PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria) group. The ability of bacteria to biostimulate plant growth and development was assessed, among others, by based on: the ability to synthesize phytohormones; the ability to produce siderophores; ability to solubilize phosphates; the ability to fix atmospheric nitrogen, produce ACC deaminase, biofilm and exopolysaccharides. The metabolic profile of selected strains potentially promoting plant growth was also determined, which was made on the basis of BIOLOG GEN III MicroPlates (assessing the ability to metabolize carbon sources and chemical sensitivity).

The subject of the study were bacterial strains isolated from the rhizosphere of plants growing on metallurgical waste dumps heavily polluted with heavy metals with extremely difficult water conditions, as well as from plant root zone on arable land from conventional and ecological systems. The ability to solubilize phosphates was carried out using a medium for phosphate-dissolving microorganisms according to the method of Pikovskaya, 1948. Bacteria were spot inoculated on the medium using a sterile bacteriological loop. After 14 days of incubation at 28°C, the diameter of bacterial colonies and clear zones, which resulted from the release of phosphorus from its insoluble salt  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , were measured. The ability of individual microorganisms to solubilize phosphates was assessed on the basis of

the solubilization index (SI) according to the formula described in the scientific literature. The analysis showed that our bacteria have a differentiated ability to solubilize phosphates, which allowed the selection of strains for further tests (the maximum clearing zone was 4 SI).

The use of phosphate solubilizing bacteria is undoubtedly an attractive method of increasing the effectiveness of bioremediation. This is due, among others, to their potential to promote plant growth and development under conditions of abiotic stress and the aforementioned ability to activate poorly soluble forms of phosphorus. These bacteria often also have other valuable mechanisms for promoting plant growth, which, with often limited fertilization options and extreme weather phenomena, is a valid alternative, reaching at the same time for the basics of sustainable agriculture and nature-based solutions.

*Project funded under the competition Lider XII The National Centre for Research and Development; No. LIDER/36/0184/L-12/20/NCBR/2021.*

## Fluorescencja chlorofilu w ocenie toksyczności wody zanieczyszczonej olejem napędowym

Ł. Sikorski, A. Bęś

Katedra Chemii, Wydział Rolnictwa i Leśnictwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Prawocheńskiego 17, 10–720 Olsztyn

e-mail: lukasz.sikorski@uwm.edu.pl; agnieszka.bes@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: woda, olej napędowy, fitotoksyczność, Algaltoxkit, fluorescencja chlorofilu

Zanieczyszczenie środowiska ropą naftową i produktami ropopochodnymi jest problemem znanym na całym świecie. Źródłem są nie tylko katastrofy platform wiertniczych czy tankowców, lecz również ich eksploatacja, transport naziemny, przetwórstwo i przechowywanie paliw. Prognozy World Oil Outlook wskazują na ciągły wzrost globalnego zapotrzebowania, który w 2035 roku wyniesie 111,8 mlnb/doba (baryłek na dobę) oleju napędowego (ON). Wzrost ten wiąże się ze wzrostem zagrożenia dla środowiska, w tym zbiorników słodkowodnych. Toksyczność ON wynika z jego budowy chemicznej, ponieważ diesel jest mieszaniną kilku frakcji ropy naftowej (m.in. parafiny, nafteny, olefiny oraz związków aromatycznych). Dlatego ważne jest aby badać skutki ekologiczne tego ksenobiotyku w stosunku do organizmów słodkowodnych. Ksenobiotyki zanieczyszczające wodę zmieniają nie tylko cechy morfologiczne, ale i biochemiczne roślin. Ich toksyczność objawia się w postaci zakłóceń procesów fizjologicznych, w tym hamowania fotosyntezy a w konsekwencji emisji fluorescencji. Uszkodzenia aparatu fotosyntetycznego, mimo, że jego objawy nie są jeszcze widoczne mogą powodować zmniejszenie wydajności fotosyntezy w roślinach, czego efektem jest zmniejszenie tempa wzrostu.

Celem pracy była ocena fitotoksyczności ON w środowisku wodnym, poprzez ocenę wybranych cech morfologicznych i fizjologicznych glonów *Pseudokirchneriella subcapitata*. Testowano następujące stężenia ON: 0; 0,3; 0,6; 1,2; 2,4% (m/v). Toksyczność badanych stężeń ON oceniano za pomocą 7 dniowego Algaltoxkit, poprzez określenie tempa wzrostu roślin, a także fluorescencji chlorofilu.

Po trzech, pięciu i siedmiu dniach doświadczenia wykazano, że tempo wzrostu glonów zmienia się ze wzrostem stężenia ON i czasem doświadczenia. W 3 dniu doświadczenia tempo wzrostu glonów w próbce kontrolnej wynosiło 208%. Tymczasem glony pod wpływem wrastających stężeń ON rosły coraz wolniej. Już przy najniższym stężeniu ON = 0,3% tempo wzrostu miało wartość 126%, aby przy najwyższym ON = 2,4% osiągnąć –37%. W piątym dniu doświadczenia tempo wzrostu glonów w próbce kontrolnej było wyższe niż w dniu trzecim i wynosiło 456%. Wśród glonów narażonych na ON rosły tylko te w najniższych stężeniach ON (0,3 i 0,6%) i wykazywały tempo wzrostu 362 i 39%, odpowiednio. Natomiast w stężeniach 1,2 oraz 2,4% ON, tempo wzrostu osiągnęło –27 i –54%. W ostatnim dniu (dzień 7) ekspozycji glonów *P. subcapitata* na ON poziom tempa wzrostu glonów w próbce kontrolnej wynosił 617%. Tymczasem rośliny narażone na 0,3; 0,6; 1,2; 2,4% ON miały jedynie 66, 9, –56 i –79% tempo wzrostu.

W 7 dniu doświadczenia wykonano pomiar fluorescencji chlorofilu glonów eksponowanych na działanie ON w pożywce. Wykazano, że  $F_0$  (fluorescencja minimalna po adaptacji w ciemności),  $F_m$  (fluorescencja maksymalna po adaptacji w ciemności),  $F_v$  (fluorescencja zmienna po adaptacji w ciemności) były modyfikowane przez stężenie ON. Wartość  $F_0$  malała wraz ze wzrostem stężenia tego ksenobiotyku. Najwyższą wartość  $F_0$  (969) odnotowano w próbce

kontrolnej, a stężenia ON wynoszące 0,3 M i 2,4% hamowały  $F_o$  odpowiednio o 2,5% i 12%. Najniższe stężenia ON (0,3 i 0,6%) nie wpłynęły na obniżenie  $F_m$  glonów, które wynosiło podobnie jak w próbie kontrolnej  $F_m=2969$ . Następnie wartość  $F_m$  znacznie zmalała. Stężenie ON = 1,2% obniżyło  $F_m$  o 9%, a stężenie ON = 2,4% obniżyło  $F_m$  o 23% w porównaniu z próbką kontrolną. Indeks  $F_v$  zmieniał się analogicznie do  $F_m$ . Toksyczność ON nie znalazła odzwierciedlenia w pomiarach  $F_v/F_m$  (maksymalna fotochemiczna wydajność PSII), czyli najbardziej czułego wskaźnika aktywności fotochemicznej aparatu fotosyntetycznego. Wskaźnik ten w próbie kontrolnej (oraz w stężeniach w zakresie od 0,3 do 2,4%) wynosił średnio 0,68.

Powyższe wskaźniki fotosyntetyczne oraz obniżające się wraz ze wzrostem zawartości ON w pożywce tempo wzrostu roślin pozwalają stwierdzić, że ON nie jest obojętny w stosunku do glonów *P. subcapitata*. Zmniejszona w wyniku obecności ON liczebność glonów *P. subcapitata* (charakteryzujących się wysoką bioproduktywnością producentów) może być odpowiedzialna za zahamowanie przeżywalności konsumentów pierwszego rzędu w ekosystemach wodnych. Badania te sugerują, że dodatkowo badana w eksperymencie fluorescencja chlorofilu glonów, szczególnie pomiary  $F_o$ ,  $F_m$ ,  $F_v$  są wczesnymi i czułymi wskaźnikami toksycznego działania ON na glony, zanim zostaną zaobserwowane zmiany morfologiczne. Wyniki tego badań potwierdzają również, że metoda biologiczna Algaltoxkit jest użytecznym narzędziem analitycznymi do oceny toksyczności ON i przewidywania skutków zanieczyszczenia substancjami ropopochodnymi powierzchniowych zbiorników wód słodkich.

## Chlorophyll fluorescence in toxicity assessment of water contaminated with diesel oil

Ł. Sikorski, A. Bęś

Department of Chemistry, Faculty of Agriculture and Forestry, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Prawocheńskiego 17, 10–720 Olsztyn  
e-mail: lukasz.sikorski@uwm.edu.pl; agnieszka.bes@uwm.edu.pl

*Keywords: water, diesel fuel, phytotoxicity, Algaltoxit, chlorophyll fluorescence*

Pollution of the environment with oil and petroleum products is a problem known all over the world. The source is not only accidents of drilling platforms or tankers, but also their operation, surface transport, processing and storage of fuels. World Oil Outlook forecasts indicate a continuous increase in global demand, which in 2035 will amount to 111.8 million/day (barrels per day) of diesel fuel (ON). This increase is associated with an increased threat to the environment, including freshwater reservoirs. The toxicity of diesel fuel results from its chemical structure, because diesel is a mixture of several petroleum fractions (including paraffins, naphthenes, olefins and aromatic compounds). Therefore, it is important to study the ecological effects of this xenobiotic on freshwater organisms. Xenobiotics polluting water change not only morphological, but also biochemical features of plants. Their toxicity manifests itself in the form of disturbances in physiological processes, including the inhibition of photosynthesis and, consequently, the emission of fluorescence. Damage to the photosynthetic apparatus, although its symptoms are not yet visible, can cause a decrease in the efficiency of photosynthesis in plants, which results in a decrease in the growth rate.

The aim of the study was to assess the phytotoxicity of ON in the aquatic environment by evaluating selected morphological and physiological features of *Pseudokirchneriella subcapitata* algae. The following ON concentrations were tested: 0; 0.3; 0.6; 1.2; 2.4% (m/v). The toxicity of the tested concentrations of ON was assessed using a 7-day Algaltoxit, by determining the growth rate of plants, as well as the fluorescence of chlorophyll.

After three, five and seven days of the experiment, it was shown that the growth rate of algae changes with the increase in ON concentration and the time of the experiment. On day 3 of the experiment, the growth rate of algae in the control sample was 208%. Meanwhile, algae under the influence of increasing ON concentrations grew slower and slower. Already at the lowest concentration of ON=0.3%, the growth rate was 126%, and at the highest ON = 2.4% it reached –37%. On the fifth day of the experiment, the growth rate of algae in the control sample was higher than on the third day and amounted to 456%. Among the algae exposed to ON, only those with the lowest ON concentrations (0.3 and 0.6%) grew and with a growth rate of 362 and 39%, respectively. However, at concentrations of 1.2 and 2.4% ON, the growth rate reached –27 and –54%. On the last day (day 7) of exposure of *P. subcapitata* algae to ON, the level of algae growth rate in the control sample was 617%. Meanwhile, plants exposed to 0.3; 0.6; 1.2; 2.4% had only 66, 9, –56 and –79% growth rate.

On the 7th day of the experiment, the chlorophyll fluorescence of algae exposed to ON in the medium was measured. It was shown that  $F_o$  (minimum fluorescence after dark adaptation),  $F_m$  (maximum fluorescence after dark adaptation),  $F_v$  (variable fluorescence after dark adaptation) were modified by ON concentration. The value of  $F_o$  decreased with increasing concentration of this xenobiotic. The highest  $F_o$  value (969) was recorded in the control



sample, and ON concentrations of 0.3 M and 2.4% inhibited  $F_o$  by 2.5% and 12%, respectively. The lowest concentrations of ON (0.3 and 0.6%) did not reduce the  $F_m$  of algae, which was  $F_m = 2969$ , similar to the control sample. Thereafter, the value of  $F_m$  decreased significantly. ON = 1.2% reduced  $F_m$  by 9% and ON = 2.4% reduced  $F_m$  by 23% compared to the control sample. The  $F_v$  index changed analogously to  $F_m$ . ON toxicity was not reflected in  $F_v/F_m$  measurements (maximum photochemical efficiency PSII), which is the most sensitive indicator of photochemical activity of the photosynthetic apparatus. This index in the control sample (and in concentrations ranging from 0.3 to 2.4%) was 0.68 on average.

The above photosynthetic indices and the rate of plant growth, which decreases with the increase in ON content in the medium, allow us to conclude that ON is not indifferent to *P. subcapitata* algae. The reduced number of *P. subcapitata* algae (characterized by high bioproductivity of producers) as a result of the presence of ON may be responsible for inhibiting the survival of first-order consumers in aquatic ecosystems. These studies suggest that the fluorescence of algae chlorophyll studied in the experiment, especially the measurements of  $F_o$ ,  $F_m$ ,  $F_v$ , are early and sensitive indicators of the toxic effect of ON on algae, before morphological changes are observed. The results of this study also confirm that the Algaltoxkit biological method is a useful analytical tool for the assessment of diesel toxicity and for predicting the effects of oil-derivative contamination of surface freshwater reservoirs.

## Odporność gleb na zanieczyszczenie metalami ciężkimi – eksperyment laboratoryjny z wykorzystaniem biotestu Phytotoxkit

W. Toloczko<sup>1</sup>, A. Wyrwicka-Drewniak<sup>2</sup>, R. Spala<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Geografii Fizycznej, ul. Narutowicza 88, Wydz. Nauk Geograficznych Uniwersytetu Łódzkiego

<sup>2</sup> Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin, ul. Banacha 12/16, Wydz. Biologii i Ochrony Środowiska UŁ  
e-mail: wojciech.toloczko@geo.uni.lodz.pl

*Słowa kluczowe: biotest Phytotoxkit, metale ciężkie, gleby uprawne*

Rozwój wielu sektorów gospodarki oraz postępująca urbanizacja umożliwia dostarczenie do środowiska glebowego różnych zanieczyszczeń, w tym metali ciężkich. Te pierwiastki chemiczne, gdy znajdują się na powierzchni gleby to kumulują się i po osiągnięciu odpowiednio wysokich stężeń oddziałują niekorzystnie na rozwój roślin. IUNG w Puławach wyznaczył stopnie zanieczyszczenia gleb metalami ciężkimi.

Miejsca poboru próbek glebowych do badań pochodziły z gminy Lubochnia i były zlokalizowane w pobliżu drogi ekspresowej S8, będącej ewentualnym ogniskiem ich zanieczyszczenia metalami ciężkimi. Pierwszym celem pracy było przygotowanie próbek, których roztwór glebowy będzie zawierał wskazane przez IUNG graniczne ilości ołowiu, cynku, miedzi, niklu i kadmu.

Próbki, po ok. 3 kg pobrano z poziomów próchnicznych czterech różnych gleb. W badaniu wykorzystano powietrznie suche próbki o masie 100 gramów. Każdą z nich modyfikowano tak, że uzyskano II, III oraz IV stopień zanieczyszczenia jednym z pięciu pierwiastków chemicznych (Pb, Zn, Cu, Ni oraz Cd). Uzyskano 15 wariantów dla poziomu próchnicznego jednej gleby. Powtórzono to dla pozostałych trzech gleb, co dało łącznie 60 wariantów. Wykonano również badania dla 4 próbek kontrolnych – nieskażonych.

Do badań nad odpornością gleb na zanieczyszczenie metalami ciężkimi i jednocześnie nad toksycznością przygotowanych próbek glebowych wykorzystano biotest Phytotoxkit i zastosowano nasiona rzeżuchy (*Lepidium sativum*). Długości korzeni rzeżuchy mierzono po trzydniowym okresie wzrostu. Ich długości wskazywały na zahamowanie rozwoju wywołany coraz większą ilością metalu ciężkiego w glebie. Poza tym przeprowadzono również badania m.in. składu granulometrycznego, odczynu gleby oraz zawartości węgla organicznego.

Uziarnienie wszystkich gleb było podobne i można je określić jako piaski gliniaste. Różniły się nieznacznie zawartością frakcji pylastej i ilastej. Odczyn badanych gleb wahał się od lekko kwaśnego do obojętnego dla gleb z gruntów orných, natomiast gleba z łąki miała odczyn zasadowy. Największe różnice dotyczyły procentowej zawartości węgla organicznego, których to gleba z użytku zielonego zawierała zdecydowanie więcej.

Z przeprowadzonych analiz wynika, że gleba pochodząca z użytku zielonego wykazała największą odporność na zanieczyszczenia metalami ciężkimi. Biotest Phytotoxkit wskazał, że zahamowanie wzrostu korzeni rzeżuchy było zdecydowanie mniejsze niż w przypadku gleb z gruntów orných. Główną przyczyną może być wyższa zawartość węgla organicznego oraz korzystny odczyn zasadowy. Najbardziej niekorzystne wyniki uzyskano dla gleby z pola uprawnego, która charakteryzowała się najniższą zawartością węgla organicznego oraz odczynem lekko kwaśnym. Należy ją uznać za najmniej odporną na zanieczyszczenie metalami ciężkimi.

## Soil resistance to heavy metal contamination – a laboratory experiment using the Phytotoxkit biotest

W. Toloczko<sup>1</sup>, A. Wyrwicka-Drewniak<sup>2</sup>, R. Spala<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Physical Geography, University of Lodz, ul. Narutowicza 88, 90–139 Łódź

<sup>2</sup> Department of Plant Physiology and Biochemistry, University of Lodz, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

e-mail [wojciech.toloczko@geo.uni.lodz.pl](mailto:wojciech.toloczko@geo.uni.lodz.pl)

*Keywords: Phytotoxkit biotest, heavy metals, arable soils*

The development of many sectors of the economy and progressing urbanization make it possible to deliver various pollutants, including heavy metals, to the soil environment. These chemical elements, when they are on the surface of the soil, accumulate and, after reaching sufficiently high concentrations, adversely affect the development of plants. IUNG in Puławy determined the degree of soil contamination with heavy metals.

The sampling sites for soil samples for testing came from the Lubochnia commune and were located near the S8 expressway, which is a possible focus of their contamination with heavy metals. The first objective of the work was to prepare samples whose soil solution would contain the limit amounts of lead, zinc, copper, nickel and cadmium indicated by IUNG.

Samples, approx. 3 kg each, were taken from the humus horizons of four different soils. Air-dry samples weighing 100 grams were used in the study. Each of them was modified so that II, III and IV degrees of contamination with one of five chemical elements (Pb, Zn, Cu, Ni and Cd) were obtained. 15 variants were obtained for the humus horizon of one soil. This was repeated for the remaining three soils, giving a total of 60 variants. Tests were also carried out for 4 control samples – uncontaminated.

The Phytotoxkit biotest and watercress (*Lepidium sativum*) seeds were used to study the resistance of soils to heavy metal contamination and, at the same time, the toxicity of the prepared soil samples. Cress root lengths were measured after a three-day growth period. Their lengths indicated the inhibition of development caused by the increasing amount of heavy metal in the soil. In addition, studies were also carried out granulometric composition, soil reaction and organic carbon content.

The granulation of all soils was similar and can be described as loamy sands. They differed slightly in the content of the silt and clay fraction. The reaction of the tested soils ranged from slightly acidic to neutral for the soils from arable land, while the soil from the meadow was alkaline. The biggest differences concerned the percentage of organic carbon, which was much higher in the soil from grassland.

The conducted analyzes show that the soil from grassland showed the greatest resistance to heavy metal contamination. The Phytotoxkit biotest indicated that the growth inhibition of cress roots was significantly lower than in the case of soils from arable land. The main reason may be a higher content of organic carbon and a favorable alkaline reaction. The most unfavorable results were obtained for the soil from the cultivated field, which was characterized by the lowest content of organic carbon and a slightly acid reaction. It should be considered the least resistant to contamination with heavy metals.

## Ocena toksyczności nanocząstek srebra pochodzenia mikrobiologicznego wobec wybranych drobnoustrojów glebowych

**A. Tończyk<sup>1,2</sup>, K. Niedziałkowska<sup>1</sup>, K. Lisowska<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90–237 Łódź

<sup>2</sup> Szkoła Doktorska BioMedChem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów PAN w Łodzi, ul. Matejki 21/23, 90–237 Łódź

e-mail: [aleksandra.tonczyk@edu.uni.lodz.pl](mailto:aleksandra.tonczyk@edu.uni.lodz.pl)

*Słowa kluczowe: nanocząstki srebra, toksyczność środowiskowa, biosynteza, aktywność przeciwdrobnoustrojowa*

Nanocząstki srebra, stanowiące jedno z najlepiej scharakteryzowanych nanomateriałów metalicznych, cieszą się wciąż niesłabnącym zainteresowaniem. Ze względu na swoje unikalne właściwości znajdują zastosowanie w medycynie oraz wielu gałęziach przemysłu, m.in. w przemyśle chemicznym, tekstylnym, kosmetycznym, farmaceutycznym czy budowlanym. Silny potencjał aplikacyjny nanocząstek srebra sprawia, że wciąż opracowywane są nowe metody ich syntezy. Nanomateriały te mogą być pozyskiwane na drodze chemicznej, fizycznej lub biologicznej. Szczególnie interesujące są ekologiczne metody biologicznej produkcji nanocząstek srebra, przebiegające z udziałem organizmów żywych lub produktów ich metabolizmu. Wśród mikroorganizmów to grzyby strzępkowe mogą stać się głównymi producentami nanocząstek srebra na skalę przemysłową. Ze względu na niskie koszty procesu i brak toksycznych odpadów poprodukcyjnych mikrobiologiczna synteza nanocząstek srebra, będąca metodą wydajną i przyjazną dla środowiska naturalnego, może zastąpić konwencjonalne metody ich syntezy.

Nanocząstki srebra wykazują silną aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec szerokiego spektrum mikroorganizmów chorobotwórczych. W związku z tym stosowane są jako czynniki przeciwdrobnoustrojowe w postaci preparatów do zastosowania zewnętrznego, takich jak opatrunki, płyny odkażające, maści i środki zwalczające powierzchniowe infekcje bakteryjne i grzybicze u ludzi i zwierząt. Tak intensywne wykorzystanie nanocząstek srebra spowodowało uwalnianie ich znacznych ilości do środowiska naturalnego. Ze względu na ich silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe, nanometryczne rozmiary i potencjalną zdolność do akumulacji w organizmach żywych, nanocząstki srebra stanowią poważne zagrożenie dla ekosystemów wodnych i glebowych, do których nanomateriały te mogą być bezpośrednio uwalniane.

Celem niniejszej pracy była ocena toksyczności nanocząstek srebra pochodzenia mikrobiologicznego wobec wybranych drobnoustrojów glebowych.

Prezentowana praca obejmowała screening grzybów strzępkowych wyizolowanych z prób gleby w kierunku ich zdolności do wydajnej syntezy nanocząstek srebra. Kolejny etap stanowiła produkcja nanocząstek srebra przy udziale najefektywniejszego szczepu oraz ocena ich aktywności biologicznej oraz toksyczności środowiskowej. Po potwierdzeniu silnego potencjału przeciwdrobnoustrojowego pozyskanych nanocząstek srebra wobec powszechnych patogenów człowieka, analizie poddano ich aktywność wobec wybranych szczepów mikroorganizmów glebowych. W tym celu wykorzystano szczepy bakterii *Pseudomonas putida* DSM 291, *Pseudomonas moorei* DSM 12647, *Bacillus subtilis* DSM 3657 oraz grzybów strzępkowych *Trichoderma virens* DSM 1963 i *Trichoderma resei* QF 9414. Badania przeprowadzone zostały metodą mikrorozcieńczeń w zakresie stężeń nanocząstek srebra wynoszącym 0,098 – 100 µg/ml.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że obecność nanocząstek srebra w środowisku glebowym może negatywnie oddziaływać na jej mikroflorę autochtoniczną, a w szczególności na szczepy bakterii glebowych. Jednocześnie wykazano, że wpływ nanocząstek srebra na obecne w glebie grzyby strzępkowe z rodzaju *Trichoderma* jest mniej znaczący w porównaniu z badanymi bakteriami. Podsumowując można stwierdzić, że masowe wykorzystanie nanocząstek srebra i ich niekontrolowane uwalnianie do środowiska naturalnego może stanowić poważne zagrożenie dla prawidłowego funkcjonowania różnych ekosystemów. Wykazane negatywne oddziaływanie badanych nanomateriałów na mikroflorę gleby może skutkować zmianami profilu jej mikrobioty, a co za tym idzie – wpływać na jej żyzność i rozwój roślinności.

## Toxicity assessment of silver nanoparticles of microbial origin against selected soil microorganisms

**A. Tończyk<sup>1,2</sup>, K. Niedziałkowska<sup>1</sup>, K. Lisowska<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz, 12/16 Banacha Street, 90–237 Lodz, Poland

<sup>2</sup> The Bio-Med-Chem Doctoral School, University of Lodz and Lodz Institutes of the Polish Academy of Sciences, University of Lodz, 21/23 Matejki Street, 90–237, Lodz, Poland  
e-mail: [aleksandra.tonczyk@edu.uni.lodz.pl](mailto:aleksandra.tonczyk@edu.uni.lodz.pl)

*Keywords: silver nanoparticles, ecotoxicity, biosynthesis, antimicrobial activity*

Silver nanoparticles, one of the best characterized metallic nanomaterials, are still of great interest. Due to their unique properties, they are used in medicine and in variety of industries including chemical, textile, cosmetic, pharmaceutical and construction. A wide range of possibilities of application of silver nanoparticles explains why new methods of their synthesis are still being developed. Nanomaterials can be obtained by chemical, physical or biological processes. Particularly interesting are ecological methods of biological production of silver nanoparticles, involving living organisms or products of their metabolism. Among microorganisms, filamentous fungi may become the main producers of silver nanoparticles on an industrial scale. Due to the low cost of the process and the lack of toxic post-production waste, the microbial synthesis of silver nanoparticles, which is an efficient and environmentally friendly method, can replace conventional methods of the synthesis.

Silver nanoparticles exhibit strong antimicrobial activity against a wide spectrum of pathogenic microorganisms. Therefore, they are used as antimicrobial agents in the form of preparations for external use, such as dressings, disinfectants, ointments and remedies to combat surface bacterial and fungal infections in humans and animals. The intensive use of silver nanoparticles results in their release into the natural environment in significant amounts. Due to their strong antimicrobial properties, nanometric size and potential for accumulation in living organisms, silver nanoparticles pose a serious threat to water and soil ecosystems, into which these nanomaterials can be directly released.

The aim of this study was to evaluate the toxicity of silver nanoparticles synthesized microbiologically against the selected soil microorganisms.

The presented research involved the screening of filamentous fungi isolated from soil samples for their ability to synthesize silver nanoparticles efficiently. Next step was the production of silver nanoparticles using the most effective strain and the assessment of their biological activity and environmental toxicity. Having confirmed the strong antimicrobial potential of the obtained silver nanoparticles against common human pathogens, their activity against selected strains of soil microorganisms was analyzed. For this purpose, strains of bacteria *Pseudomonas putida* DSM 291, *Pseudomonas moorei* DSM 12647, *Bacillus subtilis* DSM 3657 and filamentous fungi *Trichoderma virens* DSM 1963 and *Trichoderma resei* QF 9414 were used. The test was carried out with the microdilution method in titration plates, in the silver nanoparticles concentration range of 0.098–100 µg/ml.

The results proved that the presence of silver nanoparticles in the soil environment may have a negative impact on its indigenous microflora, in particular on soil bacteria strains. Parallely, it was shown that the effect of silver nanoparticles on filamentous fungi of the genus *Trichoderma* present in the soil is less significant compared to the tested bacteria. To sum up, it

can be concluded that the massive use and uncontrolled release of silver nanoparticles into the natural environment may pose a serious threat to the proper functioning of various ecosystems. The demonstrated negative impact of the tested nanomaterials on the soil microflora may result in changes in the profile of its microbiota, thus affecting its fertility and plants development.

## Pozostałości zanieczyszczeń w komunalnych osadach ściekowych: stężenia, ekotoksyczność i ocena ryzyka dla środowiska glebowego

**M. Urbaniak<sup>1</sup>, L. Serwecińska<sup>1</sup>, A. Baran<sup>2</sup>, J. Giebułtowicz<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, Tylna 3, Łódź, Polska

<sup>2</sup> Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Al. Mickiewicza 21, 31–120 Kraków, Polska

<sup>3</sup> Warszawski Uniwersytet Medyczny, Zakład Analizy Leków, ul. Banacha 1, 02–097 Warszawa, Polska

e-mail: [m.urbaniak@unesco.lodz.pl](mailto:m.urbaniak@unesco.lodz.pl)

*Słowa kluczowe: osady ściekowe, metale ciężkie, antybiotyki, TZO, analiza ryzyka, ekotoksykologia*

Nadmierne użytkowanie gleby, m.in. przez intensywne praktyki rolnicze, sprzyja jej erozji, pustynnieniu oraz degradacji, stwarzając ryzyko ograniczenia dostępności do tego zasobu dla przyszłych pokoleń. Jednym z możliwych sposobów odwrócenia ww. negatywnych skutków jest zwiększenie zasobów węgla organicznego oraz azotu i fosforu w glebie za pomocą dodatków organicznych, takich jak osady ściekowe. Praktyka taka jest zalecana jako jedna z możliwych metod utylizacji osadów ściekowych przez Europejską Dyrektywę 86/278/EWG. Jednak osady ściekowe, jako produkt końcowy procesów oczyszczania ścieków, zawierają szereg substancji toksycznych (ksenobiotyków), w tym takich, które nie podlegają żadnym regulacjom. Osady zawierają m.in. szereg związków nieorganicznych, takich jak metale ciężkie, i organicznych, takich jak polichlorowane dibenzo-p-dioksyny i furany (PCDD/F) oraz polichlorowane bifenyle (PCB), a także środki farmaceutyczne, w tym antybiotyki. Tym samym, rolnicze wykorzystanie osadów ściekowych stało się przyczynkiem do dyskursu na temat potencjalnego zagrożenia dla środowiska i zdrowia ludzi.

Biorąc pod uwagę powyższe, celem prezentowanych badań było zbadanie jakości osadów ściekowych pod kątem ich składu chemicznego (zawartość metali ciężkich, PCDD/F, PCB, pozostałości antybiotyków), ekotoksyczności (Mictotox, Ostracodtoxkit) oraz ryzyka środowiskowego (RQenv) w perspektywie ich rolniczego wykorzystania.

Osady ściekowe pobierano 5 razy na przestrzeni 2021–2022 roku (pobór co ok 2 miesiące) z czterech oczyszczalni ścieków (WTP) różniących się wielkością (mała – klasa I, średnia – klasa II, duża – klasa III, bardzo duża – klasa IV) i technologią oczyszczania ścieków.

Uzyskane wyniki wskazują na znaczne zróżnicowanie poziomu zanieczyszczeń w poszczególnych oczyszczalniach. Wśród metali, najwyższe średnie stężenie odnotowano dla Zn (459 mg/kg), następnie Ni (399 mg/kg), Cu (100 mg/kg), Cr (25 mg/kg), Pb (16,8 mg/kg) oraz Cd (6,34 mg/kg). Osad z OŚ klasy III charakteryzował się najwyższym, a z klasy I najniższym stężeniem metali ciężkich. Zawartość PCDD/Fs oraz WHO-PCB i PCB<sub>i</sub> była z kolei najwyższa w osadach pochodzących z OŚ klasy III (odpowiednio 14, 1,3 i 15 ngTEQ/g), następnie z OŚ klasy IV (odpowiednio 4,5, 0,82 i 18 ngTEQ/g), OŚ klasy II (odpowiednio 5,7, 0,50 i 4,1 ngTEQ/g) i OŚ klasy I (odpowiednio 2,3, 0,46 i 4,8 ngTEQ/g). Wszystkie badane osady ściekowe charakteryzowały się również podwyższoną zawartością antybiotyków, przy czym najwyższe średnie stężenia odnotowano dla tetracykliny (337 ng/g), następnie w kolejności malejącej: ofloksacyny (117 ng/g), cyprofloksacyny (88 ng/g) norfloksacyny (78 ng/g), trimetoprimu (10 ng/g), klindamycyny (3,3 ng/g) i tiabendazolu (0,48 ng/g). Spośród wszystkich czterech oczyszczalni ścieków, tetracycline, trimetoprim i klindamycyne odnotowano w najwyższych stężeniach



w osadach pochodzących z oczyszczalni klasy I; natomiast cyprofloksacyna, norfloksacyna, tiabendazol i ofloksacyna wykazywały najwyższe średnie stężenia w osadach pochodzących z OŚ klasy II.

Analizy ekotoksykologiczne wskazały na wysoką toksyczność badanych osadów ściekowych dla organizmów testowych tj. *Vibrio fischeri* (Microtox) i *Heterocypris incongruens* (Ostracodtoxkit), oscylującą pomiędzy 80 a 100% PE. Również współczynniki ryzyka środowiskowego wykazały potencjalne zagrożenie badanych osadów ściekowych dla gleby rolniczej:  $RQ_{env}$  dla metali ciężkich wyniosło od 0,022 do 1,33; dla PCDD/Fs wahało się w granicach 0,023–0,14; dla iPCB 0,009–0,01; a dla antybiotyków oscyloowało pomiędzy 0,005 a 1,57.

Prezentowana praca, poprzez wielowymiarowe podejście do problemu bezpiecznej utylizacji osadów ściekowych, wskazuje na konieczność oceny szerokiego spektrum czynników (chemicznych, ekotoksykologicznych i współczynników ryzyka) w ocenie jakości osadów pod kątem ich zastosowania w rolnictwie.

*Badania sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu badawczego nr 2020/39/B/NZ9/01772 pt. Zmiany zespołów mikroorganizmów, oporności na antybiotyki i właściwości fizykochemicznych gleby nawożonej komunalnymi osadami ściekowymi (umowa UMO-2020/39/B/NZ9/01772).*

## Pollutants residues in municipal sewage sludge: concentrations, ecotoxicity and risk assessment for soil environment

**M. Urbaniak<sup>1</sup>, L. Serwecińska<sup>1</sup>, A. Baran<sup>2</sup>, J. Giebułtowicz<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>European Regional Centre for Ecohydrology of the Polish Academy of Sciences, Tylna 3, Łódź, Poland

<sup>2</sup>University of Agriculture in Krakow, Faculty of Agriculture and Economics, Department of Agricultural and Environmental Chemistry, Al. Mickiewicza 21, 31–120 Krakow, Poland

<sup>3</sup>Medical University of Warsaw, Department of Drug Analysis, ul. Banacha 1, 02–097 Warsaw, Poland

e-mail: m.urbaniak@unesco.lodz.pl

*Keywords: sewage sludge, heavy metals, antibiotics, POPs, risk assessment, ecotoxicology*

The overuse of soil, for example by intensive agricultural practices, causes soil erosion, desertification and deterioration, and makes the soil inaccessible to future generations as a resource. One possible way to reverse these negative effects is by increasing the organic carbon and nitrogen stocks of the soil with organic amendments such as sewage sludge; this has been recommended as one possible method of sludge utilization by the European Directive on Sewage Sludge (86/278/EEC). However, as the end product of wastewater purification processes, sewage sludge contains large amounts of toxic substances (xenobiotics), including those that are not subject to any regulation; these substances include a range of inorganic such as heavy metals and organic compounds such as polychlorinated dibenzo-p-dioxins and furans (PCDDs/Fs) and polychlorinated biphenyls (PCBs), and a range of pharmaceuticals including antibiotics as one of the most emerging ones. Hence in recent years, the use of sewage sludge has become a major safety concern for its potential risk to the environment and human health.

The aim of our study was to test the overall quality of sewage sludge in term of its chemical composition (content of heavy metals, PCDDs/Fs, PCBs, and antibiotic residues), ecotoxicity (Mictotox, Ostracodtoxkit), and potential risks to the environment (environmental risk quotients –  $RQ_{env}$ ).

The sewage sludge were collected 5 times throughout the year 2021–2022 (i.e. every 2 months) from four Wastewater Treatment Plants (WTPs) differing in size (small – Class I, medium – Class II, medium-large -Class III, large – Class IV) and purification technology.

The obtained results indicate a significant diversification of the level of pollutants in individual WTPs. In term of heavy metals, the highest average concentration was noted for Zn (459 mg/kg), following by Ni (399 mg/kg), Cu (100 mg/kg), Cr (25 mg/kg), Pb (16.8 mg/kg), and Cd (6.34 mg/kg). The WTP with the most elevated concentration of heavy metals was Class III WTP, while Class I WTP demonstrated the lowest content of heavy metals. PCDDs/Fs and WHO-PCBs and PCB<sub>i</sub> contents were the highest in Class III WTP (14, 1.3 and 15 ngTEQ/g, respectively), following by Class IV WTP (4.5, 0.82 and 18 ngTEQ/g, respectively), Class II WTP (5.7, 0.50 and 4.1 ngTEQ/g, respectively), and Class I WTP (2.3, 0.46 and 4.8 ngTEQ/g, respectively). All tested sewage sludge demonstrated also elevated contents of antibiotics, with the highest average concentrations noted for tetracycline (337 ng/g), following by ofloxacin (117 ng/g), ciprofloxacin (88 ng/g) norfloxacin (78 ng/g), trimethoprim (10 ng/g), clindamycin (3.3 ng/g) and thiabendazole (0.48 ng/g). Among all four WTPs, tetracycline, trimethoprim and clindamycin were noted in the highest concentrations in sewage sludge coming from Class I WTP;

while ciprofloxacin, norfloxacin, thiabendazole and ofloxacin showed the highest average concentrations in class II WTP.

The ecotoxicity test confirmed high toxicity of the studied sewage sludge for both test organisms i.e. *Vibrio fischerii* (Microtox) and *Heterocypris incongruens* (Ostracodtoxkit) which oscillate between 80 and 100%. Additionally, the calculated risk quotients proved a potential hazard of the studied sewage sludge to the environment as confirmed by the  $RQ_{env}$ , which ranged from 0.022 to 1.33 for heavy metals, 0.023–0.14 for PCDDs/Fs, 0.009–0.01 for iPCBs and from 0.005 to 1.57 for antibiotics.

The presented study, through a multidimensional approach to the problem of safe utilization of sewage sludge, indicates a necessity to evaluate a wide range of factors (chemical, ecotoxicological and risk assessment) in assessing the overall quality of sludge for the purpose of its application in agriculture.

*Research funded by the National Science Center, Poland, under research project No. 2020/39/B/NZ9/01772 entitled Microbial community, antibiotic resistance and physicochemical changes in soil amended with municipal sewage sludge (contract nr UMO-2020/39/B/NZ9/01772).*



## **Charakterystyka szczepów autochtonicznych wyizolowanych z terenów silnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi jako potencjalnych komponentów bionawozów**

**M. Woźniak, S. Siebielec, G. Siebielec**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24–100 Puławy*

*e-mail autora prezentującego: m.wozniak@iung.pulawy.pl*

*Słowa kluczowe: bakterie ryzosferowe, fitostymulacja, fitohormony, IAA*

Biorąc pod uwagę znaczenie wody dla fizjologicznego wzrostu i rozwoju roślin, niedobór wody ma niekorzystny wpływ na rośliny oraz doprowadza do stresu suszy. Susza jest jednym z głównych problemów środowiskowych współczesnego rolnictwa, ponieważ prowadzi do zmniejszenia wzrostu roślin, co w konsekwencji ogranicza produkcję roślinną. Istnieje zatem potrzeba poszukiwania sposobów zmniejszenia tego zagrożenia poprzez poprawę wzrostu roślin w warunkach stresu suszy. Jednym z możliwych rozwiązań może być stosowanie bionawozów wzbogaconych mikrobiologicznie. Celem niniejszego badania była charakterystyka potencjalnych komponentów bionawozów tj. szczepów bakterii wyizolowanych z ryzosfery roślin porastających składowiska odpadów pohutniczych silnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi o niezwykle trudnych warunkach wodnych, jak i spod roślin na gruntach ornych z systemów konwencjonalnych i ekologicznych. Szczepy charakteryzowano pod kątem zdolności do syntezy kwasu indolio-3-octowego (IAA) jako fitohormonu przyczyniającego się do zwiększania tolerancji roślin na stres suszy. Auksyny łagodzą stres suszy poprzez zwiększenie długości korzeni i modyfikację ich struktury umożliwiając lepszy dostęp do wody i składników odżywczych. Zdolność do syntezy IAA określono spektrofotometrycznie na pożywce suplementowanej L-tryptofanem wykorzystując odczynnik Salkowskiego. Większość analizowanych szczepów aktywnie syntetyzowała IAA, w zakresie od 1,35 do 60,10  $\mu\text{g IAA ml}^{-1}$ . Wyizolowane w ramach niniejszych badań szczepy bakterii ryzosferowych wykazują *in vitro* wysoki potencjał biostymulujący wzrost i rozwój roślin, w związku z czym mogą być w przyszłości dalej badane po kątem wykorzystania w rolnictwie jako mikrobiologicznych komponentów bionawozów.

*Projekt finansowany w ramach konkursu Lider XII Narodowego Centrum Badań i Rozwoju; Nr LIDER/36/0184/L-12/20/NCBR/2021.*



## Characteristics of autochthonous strains isolated from areas heavily polluted with heavy metals as potential components of biofertilizers

M. Woźniak, S. Siebielec, G. Siebielec

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24–100 Puławy*

*e-mail of presenting author: m.wozniak@iung.pulawy.pl*

*Keywords: rhizosphere bacteria, phytostimulation, phytohormones, IAA*

Given the importance of water for the physiological growth and development of plants, water scarcity has adverse effects on plants and leads to drought stress. Drought is one of the main environmental problems of modern agriculture, as it leads to reduced plant growth, which consequently limits crop production. Therefore, there is a need to look for ways to reduce this threat by improving plant growth under drought stress. One possible solution may be the use of microbially enriched biofertilizers. The aim of the present study was to characterize potential components of biofertilizers, i.e., bacterial strains isolated from the rhizosphere of plants overgrowing heavy metal contaminated landfills with extremely harsh water conditions, as well as from plant root zone on arable land from conventional and organic systems. The strains were characterized for their ability to synthesize indole-3-acetic acid (IAA) as a phytohormone that contributes to plant tolerance to drought stress. Auxins alleviate drought stress by increasing root length and modifying root structure allowing better access to water and nutrients. The ability to synthesize IAA was determined spectrophotometrically on L-tryptophan-supplemented medium using the Salkowski reagent. Most of the analyzed strains actively synthesized IAA, in the range of 1.35 to 60.10  $\mu\text{g IAA ml}^{-1}$ . The rhizosphere bacterial strains isolated in the present study show in vitro high biostimulating potential for plant growth and development, and can therefore be further studied in the future for use in agriculture as microbial components of biofertilizers.

*Project funded under the competition Lider XII The National Centre for Research and Development; No. LIDER/36/0184/L-12/20/NCBR/2021.*