

Magdalena Frąc

Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk

Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina

Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej

AUTOREFERAT

1. Imię i nazwisko: **Magdalena Frąc**
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej

1998-2003 Akademia Rolnicza w Lublinie, magisterskie studia stacjonarne, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Kierunek Ochrona Środowiska. Tytuł magistra inżyniera ochrony środowiska. Praca dyplomowa wykonana w Katedrze Mikrobiologii Rolniczej.

Tytuł pracy magisterskiej: „Charakterystyka zbiorowisk grzybów koniczyn i traw uprawianych na glebie torfowo-murszowej”.

Studia ukończone z wynikiem bardzo dobrym z wyróżnieniem.

2003-2007 Akademia Rolnicza w Lublinie, studia doktoranckie, Wydział Rolniczy, Katedra Mikrobiologii Rolniczej. Stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii, specjalność mikrobiologia środowiskowa.

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Wpływ osadu ściekowego z mleczarni na liczebność mikroorganizmów i ich aktywność biochemiczną w glebie”.

Praca została wyróżniona.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Styczeń 2008 – czerwiec 2008 Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk – **Mikrobiolog**

Lipiec 2008 – obecnie Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk – **Adiunkt**

Czerwiec 2009 – czerwiec 2011 Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk – **Kierownik projektu infrastrukturalnego** pn.: „Środowiskowe Laboratorium Energii Odnawialnej”, współfinansowanego z funduszy europejskich w ramach Programu Operacyjnego Rozwój Polski Wschodniej 2007-2013

Sierpień 2010 – obecnie

Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk – **Opiekun Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej**

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):
 - a) tytuł osiągnięcia naukowego:
„Ocena mikologiczna osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz jego wpływ na różnorodność funkcjonalną mikroorganizmów glebowych”
 - b) autor, tytuł, rok wydania, nazwa wydawnictwa:
Frąc M., Ocena mikologiczna osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz jego wpływ na różnorodność funkcjonalną mikroorganizmów glebowych. 2012, Acta Agrophysica Monographiae, 2012, 1, pp. 142.
 - c) omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Prowadzone przeze mnie badania nad rolniczym zagospodarowaniem osadów z oczyszczalni ścieków mleczarskich w ostatnim okresie rozszerzyłam o ocenę mikologiczną tych odpadów oraz ich oddziaływanie na różnorodność funkcjonalną mikroorganizmów glebowych. Rezultaty tych badań przedstawiłam w pracy pt.: „Ocena mikologiczna osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz jego wpływ na różnorodność funkcjonalną mikroorganizmów glebowych” (Zał. 6), która ukazała się w 2012 roku. Monografię tę uważam za największe moje osiągnięcie w działalności naukowej i przedstawiam ją, zgodnie z art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.), jako spełniony warunek do uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

Problem badawczy, który został podjęty w niniejszej rozprawie dotyczył występowania grzybów w osadzie z oczyszczalni ścieków mleczarskich wraz z uwzględnieniem ich wybranych właściwości, istotnych w ocenie możliwości wykorzystania tych mikroorganizmów w degradacji odpadów. Badania dotyczyły również oceny profilu metabolicznego gleby nawożonej osadem na tle innych tradycyjnych wskaźników aktywności mikrobiologicznej środowiska glebowego.

Celem głównym niniejszej pracy było rozszerzenie wiedzy na temat składu ilościowego i jakościowego grzybów występujących w osadzie, pochodzącym z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz ocena jego oddziaływania na różnorodność funkcjonalną mikroorganizmów glebowych. Cele szczegółowe obejmowały:

- zidentyfikowanie grzybów wyodrębnionych z osadu, z wykorzystaniem technik molekularnych oraz scharakteryzowanie ich właściwości katabolicznych,

- określenie różnorodności funkcjonalnej mikroorganizmów glebowych pod wpływem osadu na podstawie profilu metabolicznego gleby.

Spodziewałam się, że przeprowadzone badania przyczynią się również do oceny związanej z zagrożeniem zdrowia człowieka i środowiska ze strony grzybów wyodrębnionych z osadu ściekowego oraz określeniem ich potencjalnej przydatności w degradacji odpadów.

Moje wieloletnie doświadczenia oraz dane literaturowe wykazały, że osady ściekowe, w tym pochodzące z oczyszczalni ścieków mleczarskich, charakteryzują się zasobnością w mikro- i makroelementy, przede wszystkim w węgiel, azot i fosfor. Mają właściwości strukturotwórcze i zwiększające stabilność agregatów glebowych. Zwiększają pojemność wodną, zawartość form węgla organicznego, w tym kwasów humusowych i pojemność sorpcyjną. Po wprowadzeniu do gleby osady zwiększają biomasę i aktywność drobnoustrojów, jak również plony roślin uprawnych. Z powyższych powodów osady ściekowe wykorzystywane są do użyzniania i rekultywacji gleb rolniczych, leśnych i zdegradowanych, jednak konieczne jest monitorowanie stanu ekologicznego środowiska glebowego podczas rolniczego zagospodarowania tych odpadów. Nowym aspektem badań przedstawionych w omawianej pracy było zastosowanie systemu Biolog ECOPlate w badaniach wpływu osadu ścieków mleczarskich na środowisko glebowe, co wydaje się cenne z jednej strony, ze względu na dużą zawartość zróżnicowanej materii organicznej w tych odpadach, z drugiej zaś z uwagi na możliwość występowania w nich toksycznych związków chemicznych (detergentów) oraz niewielkich ilości metali ciężkich. W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące następczego oddziaływania osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich na profil metaboliczny gleby, z uwzględnieniem zahamowania lub aktywacji zdolności glebowych mikroorganizmów w stosunku do związków należących do różnych grup substratów węglowych: węglowodanów, aminokwasów, amin i amidów, kwasów karboksylowych i ketonowych oraz polimerów. Ze względu na ograniczone i fragmentaryczne dane, dotyczące oddziaływania osadów ściekowych, zwłaszcza mleczarskich na różnorodność funkcjonalną mikroorganizmów glebowych, podjęcie tego typu badań było celowe.

Osady ściekowe mogą zawierać oprócz szkodliwych składników, głównie metali ciężkich, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, dioksyn, polichlorowanych bifenyli również wiele organizmów chorobotwórczych. Powoduje to, że przyrodnicze wykorzystanie tych odpadów wiąże się z koniecznością wnikliwej oceny zagrożenia sanitarnego. Występowanie bakterii, wirusów, pierwotniaków i robaków w osadach ściekowych zostało już stosunkowo dobrze zbadane. Natomiast całkowicie nowym zagadnieniem przedstawionym w niniejszej pracy jest ocena występowania grzybów w środowisku osadów z oczyszczalni ścieków mleczarskich. Stosując możliwie najnowocześniejsze techniki biologii molekularnej, takie jak łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR) oraz sekwencjonowanie kwasów nukleinowych, w połączeniu z metodami tradycyjnej diagnostyki mikologicznej określiłam przynależność taksonomiczną dominujących grzybów wyodrębnionych z osadu oraz ich relacje filogenetyczne z innymi gatunkami. W drugim etapie badań oceniłam potencjalną aktywność hydrolityczną izolatów oraz ich podstawowe właściwości fizjologiczne i kataboliczne, z wykorzystaniem nowoczesnej, zautomatyzowanej metody Biolog FFplates.

Niniejsze badania podjęłam ze względu na szerokie wykorzystanie osadów do użyźniania i rekultywacji gleb, poważne luki na temat ekologii i występowania grzybów, w tym również chorobotwórczych i toksynotwórczych, w osadach ściekowych, jak również z uwagi na wzrastającą w ostatnich latach ilość produkowanych odpadów.

W wyniku przeprowadzonych badań szczepy grzybów wyodrębnione z osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich na podstawie kryteriów morfologicznych, biochemicznych i genetycznych (region D2 LSU) oznaczyłam jako: S1 – *Penicillium spinulosum*, S2 – *Geotrichum fragrans*, S3 – *Hypocrea jecorina*, S4 – *Coprinus cinereus*, S5 – *Fusarium sporotrichioides*, S6 – *Mucor hiemalis*, S7 – *Penicillium camembertii*, S8 – *Trichoderma atroviride*, S9 – *Mucor circinelloides*, S10 – *Aspergillus flavus oryzae*, S11 – *Trichoderma fertile*, S12 – *Trichoderma koningii*, S13 – *Geotrichum citri-aurantii*, S14 – *Trichoderma aureoviride*, S15 – *Rhizopus stolonifer stolonifer*, S16 – *Alternaria alternata*, S17 – *Candida tropicalis*, S18 – *Acremonium murorum felina*, S19 – *Beauveria felina*. Wyniki przeprowadzonych badań taksonomicznych znalazły potwierdzenie w dostępnej literaturze przedmiotu, ale również wykazały występowanie takich grzybów, których obecność w osadach ściekowych nie została potwierdzona przez innych autorów. Wynika to z faktu, że osad z oczyszczalni ścieków mleczarskich charakteryzuje się odmiennym składem chemicznym i zawartością połączeń organicznych, zwłaszcza azotowych, niż osad ścieków komunalnych, co mogło spowodować rozwój innych gatunków grzybów, których obecność w osadach ściekowych nie została dotychczas wykazana. Ponadto, brak danych literaturowych w zakresie mikologicznej charakterystyki osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich utrudnia możliwość porównania czy te gatunki były kiedykolwiek izolowane z odpadów pochodzących z innych oczyszczalni ścieków mleczarskich.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdziłam, że w osadzie z oczyszczalni ścieków mleczarskich występują przede wszystkim grzyby saprofityczne, nie stanowiące zagrożenia dla zdrowia. Jedynym zagrożeniem okazał się dermatofit geofilny *Candida tropicalis*. Jednak ze względu na to, że grzyby z rodzaju *Candida* stanowią naturalny składnik zbiorowisk populacji mikroorganizmów wielu siedlisk, w których aktywnie uczestniczą w rozkładzie substratów organicznych, nie mogą być one traktowane na równi z innymi patogenami, tj. bakteriami z rodzaju *Salmonella* czy pasożytami przewodu pokarmowego z rodzajów *Ascaris*, *Toxocara* i *Trichuris*. Osady z oczyszczalni ścieków mleczarskich nie sprzyjają rozwojowi dermatofitów zoofilnych i antropofilnych. W związku z powyższym ryzyko infekcji tymi dermatofitami w przypadku zetknięcia się człowieka z osadami ściekowymi lub gruntami rekultywowanymi tymi odpadami można uznać za minimalne. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy przy użyciu metod molekularnych pozwoliły również wykazać, że w osadzie z oczyszczalni ścieków mleczarskich występują grzyby potencjalnie patogeniczne dla roślin: *Fusarium sporotrichioides*, *Alternaria alternata*, *Mucor hiemalis*, *Mucor circinelloides*, *Geotrichum citri-aurantii*, *Rhizopus stolonifer* oraz *Acremonium murorum*, co może stanowić zagrożenie podczas rolniczego wykorzystania tych odpadów. Jednak ze względu na duże nagromadzenie w osadzie przedstawicieli z rodzaju *Trichoderma*, znanych antagonistów grzybów fitopatogenicznych, oraz znacznie mniejszy odsetek grzybów potencjalnie fitopatogennych w stosunku do antagonistycznych, zagrożenie to można uznać za minimalne. Jednak brak dostatecznych informacji i badań w tym zakresie może być wyznacznikiem potrzeby dalszych badań nad rolniczym zagospodarowaniem tych odpadów. Luki w

dotychczasowym piśmiennictwie dotyczą w szczególności aspektu skuteczności preparatów fungicydowych stosowanych w uprawie roślin na grzyby wprowadzone do gleby wraz z osadem oraz problemu uodparniania się grzybów fitopatogenicznych na substancje aktywne fungicydów. Ze względu na szerokie wykorzystanie osadów ściekowych, w tym mleczarskich, i innych odpadów organicznych do użyźniania i rekultywacji gleb wskazane byłoby również prowadzenie badań mających na celu wykorzystanie grzybów, jako wskaźników stanu zdrowotnego gleby.

Wiele drobnoustrojów wywodzących się ze środowisk naturalnych wykazuje uzdolnienia do degradacji różnych mniej lub bardziej uciążliwych i toksycznych dla środowiska związków. Jednak wzrost ilości produkowanych odpadów organicznych, w kraju, Europie i na świecie, stawia przed nauką wyzwanie dotyczące poszukiwania sposobów ich degradacji, w tym poprzez poszukiwanie szczepów mikroorganizmów o potencjalnym znaczeniu biotechnologicznym. Ze względu na to, że przydatność drobnoustrojów do oczyszczania ścieków i utylizacji odpadów stałych wiąże się m.in. z oceną ich wymagań pokarmowych oraz uzdolnień katabolicznych w niniejszej pracy wiele uwagi poświęciłam uzdolnieniom szczepów grzybów wyodrębnionych z osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich do wykorzystania różnych źródeł węgla i azotu oraz ich potencjalnej aktywności hydrolitycznej. Ważnym aspektem podjętych badań była ponadto, ocena częstości występowania poszczególnych grzybów w osadzie ściekowym oraz określenie ich liczebności w tym odpadzie.

W toku prowadzonych badań stwierdziłam, że szczepy grzybów charakteryzowały się zróżnicowanymi właściwościami katabolicznymi w stosunku do poszczególnych grup związków węglowych. Biorąc pod uwagę aspekt praktyczny podjętych badań, na oddzielne podkreślenie zasługuje zdolność niektórych szczepów grzybów, wyodrębnionych z osadu do degradacji złożonych węglowych i azotowych połączeń organicznych, co może być przydatne w zastosowaniu tych szczepów w procesach rozkładu i biodegradacji odpadów organicznych. Rezultaty badań uzyskanych w tej części pracy sugerują również udział niektórych wyizolowanych szczepów grzybów w degradacji celulozy oraz innych związków organicznych, co mogłoby mieć praktyczny wymiar wykorzystania tych mikroorganizmów w unieszkodliwianiu różnych typów odpadów organicznych.

Przeprowadzone badania własne w zakresie uzdolnień katabolicznych w stosunku do 95 różnych substratów węglowych w płytkach FF Biolog, dla grzybów wyodrębnionych z osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich, wskazują na to, że badane szczepy grzybów można podzielić na dwie grupy. W pierwszej grupie znalazła się większość grzybów wykazujących uzdolnienia w kierunku degradacji związków z kategorii węglowodanów, kwasów karboksylowych i ketonowych oraz polimerów (*H. jecorina*, *C. cinereus*, *T. artoviride*, *T. fertile*, *T. koningii*, *G. citri-aurantii*, *T. aureoviride*, *R. stolonifer*, *A. alternata*, *C. tropicalis* i *A. murorum*). Druga grupa obejmowała większość grzybów charakteryzujących się najwyższym poziomem katabolizmu organicznych połączeń azotu z grupy aminokwasów oraz amin i amidów (*P. spinulosum*, *G. fragrans*, *F. sporotrichioides*, *M. hiemalis*, *P. camembertii*, *M. circinelloides*, *A. flavus oryzae*, *B. felina*). Podział grzybów na podstawie uzyskanych wyników związany jest z tym, iż grzyby charakteryzują się unikalnym profilem metabolicznym, nie tylko w obrębie rodzajów i gatunków, ale również wśród szczepów wyselekcjonowanych z różnych środowisk. Przyswajają one szeroki wachlarz prostych i

złożonych związków pokarmowych, a także wytwarzają różnorodne metabolity, co wpływa na utworzenie charakterystycznego dla każdego organizmu profilu metabolicznego. System Biolog FF Microplate zastosowany w badaniach oceny profilu wykorzystania substratów i wzrostu grzybów umożliwił uzyskanie wartościowych wyników ze względu na możliwość wykorzystania ich do optymalizacji składu podłoży mikrobiologicznych różnych grzybów.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdziłam, że niektóre szczepy grzybów wyodrębnionych z osadu wykazały potencjalną wartość aplikacyjną (*T. fertile*, *T. koningii*, *T. aureoviride*, *T. atroviride*, *A. flavus oryzae*, *M. circinelloides*) w degradacji złożonych związków organicznych (polisacharydów, białek i tłuszczu). Grzyby te ponadto, wykorzystywały proste związki organiczne z grupy węglowodanów oraz kwasów karboksylowych i ketonowych jako źródła C i energii oraz były zdolne do rozkładu organicznych połączeń azotowych, tj. aminokwasów oraz amin i amidów. Analizując poszczególne grupy grzybów wyodrębnione w toku prowadzonych badań nasuwa się spostrzeżenie, że wśród szczepów wykorzystujących głównie węglowodany, kwasy karboksylowe i ketonowe oraz polimery najsilniej katabolizowane były cukry proste (L-arabinoza, D-fruktoza, D-galaktoza i D-mannoza) i disacharydy (D-celobioza, D-melibioza, D-trehaloza, i sacharoza) oraz należące do trisacharydów D-melezytoza i oligosacharydów stachioza. Uwagę zwraca intensywne wykorzystanie celobiozy i dobry wzrost na tym substracie badanych szczepów grzybów, przy jednoczesnym zahamowaniu wzrostu i braku katabolizmu glukozy. Efekt ten sugeruje, że grzyby te są potencjalnymi mikroorganizmami uczestniczącymi w szlaku degradacji celulozy, poprzez przecięcie wiązań β -1,4 w cząsteczce celobiozy i jej rozkład do dwóch cząsteczek glukozy. Ponadto, niektóre z omawianej grupy grzybów: *T. atroviride*, *T. aureoviride*, *T. koningii*, *T. fertile* i *H. jecorina* charakteryzowały się również potencjalną aktywnością celulolityczną, ocenioną metodą płytkową na podłożu minimalnym z celulozą, co potwierdzałoby udział tych mikroorganizmów w degradacji tego polisacharydu. W toku przeprowadzonych badań zaobserwowano, że w przypadku niektórych szczepów grzybów, intensywnemu wzrostowi na celobiozie towarzyszył wysoki poziom katabolizmu galaktozy. Uzyskane wyniki wskazują na udział tych mikroorganizmów w degradacji roślinnych materiałów odpadowych, głównie hemicelulozy, która w ponad 50% może składać się z podjednostek galaktozy i celulozy, której podstawową jednostką budulcową jest celobioza. Celuloza i hemiceluloza są ściśle powiązаныmi komponentami struktury roślinnej, dlatego wysoka aktywność metaboliczna obu związków galaktozy i celobiozy, w przypadku *A. alternata*, *A. murorum* i *T. fertile*, może wskazywać na udział tych szczepów w degradacji roślinnych węglowodanów strukturalnych. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki badań zaobserwowałam, że grzyby charakteryzujące się wysokim katabolizmem związków z grupy aminokwasów, zwłaszcza aminokwasów białkowych (L-alaniny i L-proliny) oraz amin i amidów, wykazały również uzdolnienia do degradacji białek, co mogłoby potwierdzić ich przydatność w degradacji odpadowych produktów, bogatych w połączenia azotowe.

Ze względu na rosnące zapotrzebowanie rynku na technologie unieszkodliwiania i biologicznej degradacji odpadów oraz szerokie możliwości zastosowania w tym celu enzymów należących do klasy hydrolaz, w niniejszej pracy podjęto badania obejmujące przeprowadzenie skriningu uzdolnień proteolitycznych, lipolitycznych, amyloolitycznych i celulolitycznych grzybów wyodrębnionych z osadu z oczyszczalni ścieków młeczarskich.

Podsumowując badania dotyczące uzdolnień grzybów wyodrębnionych z osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich, można stwierdzić, że wiele spośród nich posiada predyspozycje do rozkładu złożonych związków organicznych. Konieczne są jednak dalsze, bardziej szczegółowe badania optymalizacji warunków hodowli w celu produkcji biopreparatów. Wyniki przeprowadzonych badań są wyznacznikiem możliwości wyboru szczepów istotnych w degradacji połączeń organicznych różnych materiałów odpadowych. Uzyskane rezultaty sugerują, że niektóre z wyodrębnionych szczepów, zwłaszcza z rodzaju *Trichoderma* i *Aspergillus*, mogłyby zostać objęte badaniami nad możliwością opracowania mikrobiologicznych preparatów enzymatycznych, mających zastosowanie w sektorze biotechnologii rolniczej i środowiskowej, zwłaszcza w technologiach unieszkodliwiania i utylizacji odpadów organicznych.

Nieodpowiednia gospodarka osadami ściekowymi może przyczynić się do degradacji środowiska. Jedną z metod bezpiecznej utylizacji osadów ściekowych jest ich rolnicze zagospodarowanie. Jednak ze względu na skład chemiczny oraz stan sanitarny tych odpadów konieczne jest prowadzenie monitoringu ich właściwości chemicznych, biochemicznych i mikrobiologicznych w celu minimalizacji zagrożenia dla środowiska, w wyniku przyrodniczego zagospodarowania tych odpadów. Zdaniem wielu autorów osady ściekowe, powstające jako produkt uboczny w oczyszczalniach ścieków, powinny być wykorzystywane do zwiększania aktywności i różnorodności biologicznej ekosystemów. Z ekologicznego i ekotoksykologicznego punktu widzenia ważnym zagadnieniem jest poznanie oddziaływania osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich na różnorodność funkcjonalną zespołów mikroorganizmów glebowych w kontekście wskaźnika stanu mikrobiologicznego środowiska glebowego. W związku z tym podjęłam próbę oceny wpływu osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich na kształtowanie się profilu metabolicznego gleby, a wartość tych badań jest znacząca ze względu na fragmentaryczne dane dotyczące tego zagadnienia w dotychczasowym piśmiennictwie.

Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowany osad z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz głębokość gleby miały istotny wpływ na kształtowanie się badanych parametrów mikrobiologicznych. Analiza profilu metabolicznego gleby (CLPP – *community level physiological profiling*), wyrażona wskaźnikami ogólnej aktywności metabolicznej (AWCD – *average well color development*) i różnorodności (R – *richness*, H – *Shannon-Wiener*), była czułym indykatorem zmian ogólnej aktywności mikrobiologicznej środowiska glebowego pod wpływem zastosowanego osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich. Przeprowadzone badania wykazały, że osad z oczyszczalni ścieków mleczarskich aktywizował populacje glebowych mikroorganizmów, powodując wzrost różnorodności funkcjonalnej gleby, a tym samym wpływając na zwiększenie potencjału katabolicznego mikroorganizmów glebowych. Efekt ten zaznaczył się jednak tylko w powierzchniowej warstwie badanej gleby. Stwierdziłam, że potencjał kataboliczny mikroorganizmów w glebie nawożonej osadem z oczyszczalni ścieków mleczarskich zbliżony był do profilu metabolicznego ekosystemu naturalnego, co jest korzystne, z uwagi na brak zachwiania równowagi i stabilności środowiska glebowego po wprowadzeniu osadu. Uzyskane wyniki korelacji wskazują, że analiza profilu metabolicznego gleby, podobnie jak aktywność dehydrogenaz, okazała się czułym wskaźnikiem zmian zachodzących w środowisku glebowym pod wpływem nawożenia osadem pochodzącym z oczyszczalni ścieków

mleczarskich. Analiza różnorodności funkcjonalnej, oprócz ogólnej aktywności mikrobiologicznej, wykazała udział najbardziej aktywnych grup fizjologicznych drobnoustrojów wśród zespołów mikroorganizmów występujących w środowisku. Najintensywniejszą aktywność mikroorganizmów zaobserwowałam w stosunku do rozkładu węglowodanów, kwasów karboksylowych i aminokwasów.

W niniejszej pracy po raz pierwszy przedstawiono wyniki tak kompleksowych badań dotyczących charakterystyki grzybów wyodrębnionych z osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz oceny funkcjonalnej różnorodności gleby nawożonej tym odpadem.

Rezultaty przeprowadzonych badań wskazują na to, że organiczne produkty odpadowe, takie jak osady ścieków mleczarskich mogą być źródłem szczepów mikroorganizmów o zróżnicowanych właściwościach biotechnologicznych, które mogłyby zostać wykorzystane w opracowaniu nowych technologii i pozyskiwaniu naturalnych produktów. W celu przyspieszenia procesu degradacji odpadów oraz zmniejszenia zagrożenia związanego z obecnością mikroorganizmów potencjalnie chorobotwórczych w tych odpadach możliwe jest zastosowanie wyselekcjonowanych szczepów grzybów lub odpowiednich preparatów enzymatycznych ułatwiających rozkład tych odpadów. Niektóre z przebadanych grzybów są szczepami nowymi dla nauki i praktyki, ze względu na wyróżniające je potencjalne zdolności do degradacji złożonych związków organicznych.

Rezultaty badań zaprezentowanych w niniejszej pracy wskazują, że nowoczesne metody biologii molekularnej są ważnym narzędziem w szybkiej i precyzyjnej identyfikacji mikroorganizmów, a ocena różnorodności funkcjonalnej, opartej na analizie profilu metabolicznego gleby, ma niezwykle istotne znaczenie w monitorowaniu stanu gleb, dostarczając informacji o udziale mikroorganizmów w procesach przetwarzania materii organicznej w środowisku glebowym. Jest ona jednym z ważniejszych wskaźników jakości gleby, z uwagi na udział drobnoustrojów w przeprowadzaniu istotnych procesów związanych z obiegiem podstawowych pierwiastków oraz ważnych z punktu widzenia ochrony środowiska i ekologii ekosystemów.

Szeroki zakres prowadzonych badań pozwolił na wskazanie kierunków potencjalnego wykorzystania grzybów wyodrębnionych z osadu, jednak nie wyczerpał całkowicie tematu, który wymaga jeszcze wielu dalszych doświadczeń i analiz.

Badania dotyczące charakterystyki mikologicznej osadu prowadziłam w ramach Programu Iuventus Plus (projekt badawczy nr IP2010 009370). Natomiast ocenę różnorodności funkcjonalnej mikroorganizmów glebowych w wyniku nawożenia osadem wykonałam w ramach badań statutowych IA PAN.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych:

W latach 1998-2003 studiowałam Ochronę Środowiska na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt ówczesnej Akademii Rolniczej w Lublinie. Tytuł magistra inżyniera ochrony środowiska z wyróżnieniem uzyskałam w roku 2003 na podstawie egzaminu i pracy magisterskiej pt. „Charakterystyka zbiorowisk grzybów koniczyn i traw uprawianych na glebie torfowo-murszowej”. Badania do pracy magisterskiej wykonałam w Katedrze Mikrobiologii Rolniczej pod kierunkiem promotor prof. dr hab. Teresy Kornilowicz-

Kowalskiej. W trakcie studiów uzyskałam stypendium w ramach programu Socrates-Erasmus, dzięki któremu uczestniczyłam w trzytygodniowym intensywnym programie dotyczącym jakości żywności w Europie, odbywając staż w Institute Supérieur D'Agriculture Rhone-Alpes (Francja, Lyon) (III.L.1.). W roku akademickim 2003/2004 rozpoczęłam 4-letnie studia doktoranckie na Wydziale Rolniczym Akademii Rolniczej w Lublinie, w Katedrze Mikrobiologii Rolniczej. Wraz z przyjęciem na studia doktoranckie rozpoczęłam badania dotyczące rolniczego zagospodarowania osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich pod kierunkiem prof. dr hab. Stefanii Jezierskiej-Tys. Dzięki temu możliwe było rozwijanie moich zainteresowań naukowych związanych z jednej strony z ochroną środowiska, z drugiej zaś z zagadnieniami mikrobiologii środowiskowej. Stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii – mikrobiologia środowiskowa uzyskałam 27 czerwca 2007 roku na podstawie rozprawy pt.: „Wpływ osadu ściekowego z mleczarni na liczebność mikroorganizmów i ich aktywność biochemiczną w glebie”, która została wyróżniona przez Recenzentów.

Podczas studiów doktoranckich problem rolniczego zagospodarowania osadów z oczyszczalni ścieków mleczarskich był przeze mnie badany w różnych aspektach, a w szczególności dotyczył:

- aktywności mikrobiologicznej gleby nawożonej tymi odpadami,
- następczego oddziaływania osadu na liczebność mikroorganizmów glebowych,
- oceny wpływu zróżnicowanych dawek osadu na aktywność enzymatyczną gleby,
- oddziaływania tego odpadu na przemiany azotu, przebiegające w środowisku glebowym.

Badania prowadziłam zarówno w oparciu o doświadczenia wazonowe, jak również polowe, różniące się warunkami glebowymi. Przeprowadzone przeze mnie badania wykazały, że osad ścieków mleczarskich wpływa korzystnie na właściwości mikrobiologiczne i biochemiczne gleby i może być uznany za produkt wartościowy pod względem nawozowym. Udowodniłam również, że osad ścieków mleczarskich aktywizował populacje drobnoustrojów i powodował wzrost aktywności enzymatycznej w zależności od ilości odpadu wprowadzonego do gleby, czasu jego oddziaływania, a także typu zastosowanej gleby. Pobudzenie rozwoju mikroorganizmów najwyraźniej uwidoczniło się w obecności wyższych dawek odpadu. Rezultaty tych badań stanowiły podstawę do napisania dysertacji doktorskiej i 7 oryginalnych prac twórczych (II.D.15.-II.D.18., II.D.21.-II.D.23.).

Kolejnym kierunkiem badań, który realizowałam w badaniach zespołowych w początkowych latach mojej pracy naukowej było badanie wpływu symulowanych kwaśnych opadów i gnojowicy na aktywność enzymatyczną gleby płowej. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że wprowadzona do gleby zasiarczonej gnojowica w ilości $60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ stymulowała aktywność dehydrogenaz. Korzystniejsze oddziaływanie zastosowanej dawki siarki łącznie z gnojowicą stwierdzono również w przypadku aktywności proteolitycznej i urolitycznej. Wynikiem tych badań jest 1 opublikowana rozprawa naukowa (II.D.19.).

Na czwartym roku studiów doktoranckich brałam także czynny udział w badaniach prowadzonych w Katedrze Mikrobiologii Rolniczej, które dotyczyły oceny wpływu regulatorów wzrostu i rozwoju roślin na liczebność wybranych grup mikroorganizmów, występujących na powierzchni nasion rzepaku. Badania te realizowane były w celu określenia jakości mikrobiologicznej nasion rzepaku, a ich wyniki zostały zaprezentowane na

międzynarodowej konferencji naukowej w Chinach (III.B.3.). Efektem tych badań była również 1 publikacja naukowa (II.D.20.).

Wyniki, które znajdują się w w/w pracach prezentowałam na kilku konferencjach krajowych i międzynarodowych, przedstawiając łącznie 15 komunikatów naukowych (III.B.1.-III.B.15.), w tym 3 na konferencjach międzynarodowych (III.B.1.-III.B.3.).

W trakcie studiów doktoranckich aktywnie uczestniczyłam w opracowaniu projektu badawczego, kierowanego przez prof. dr hab. S. Jezierską-Tys pt. „Badania nad rolniczym wykorzystaniem osadów ściekowych z mleczarni w aspekcie mikrobiologicznych i biochemicznych wskaźników jakości i żyzności gleb” (II.I.11.). W latach 2006-2009 byłam głównym wykonawcą wymienionego projektu. Celem badań było określenie mikrobiologicznych i biochemicznych wskaźników jakości i żyzności gleby nawożonej osadem z oczyszczalni ścieków mleczarskich. Realizowane przeze mnie badania obejmowały przeprowadzenie analiz mikrobiologicznych, w tym określenie liczebności wybranych grup mikroorganizmów, aktywności respiracyjnej oraz enzymatycznej w doświadczeniach wazonowych i polowych z różnymi dawkami osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz opracowanie graficzne i statystyczne uzyskanych wyników badań. Przeprowadzone badania, które kontynuowałam również po uzyskaniu stopnia doktora, zaowocowały publikacjami (II.A.1., II.A.2., II.D.5., II.D.8.) oraz doniesieniami na konferencjach krajowych (III.B.35.-III.B.37, III.B.40., III.B.44.-III.B.47., III.B.50.) i międzynarodowych (III.B.16.-III.B.19.).

Od 1 stycznia 2008 roku do chwili obecnej jestem zatrudniona w Instytucie Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN, w Zakładzie Badań Systemu Gleba-Roślina, początkowo na stanowisku mikrobiologa, a od 1 lipca 2008 roku na stanowisku adiunkta.

Od tego czasu moje zainteresowania naukowe koncentrowały się na następujących obszarach tematycznych:

- 1) zagospodarowaniu odpadów przemysłu rolno-spożywczego, głównie osadów z oczyszczalni ścieków mleczarskich;
- 2) ocenie zagrożeń mikrobiologicznych występujących w uprawie rzepaku;
- 3) określeniu wpływu sposobu użytkowania i wybranych właściwości fizykochemicznych na aktywność mikrobiologiczną gleby.

Ad 1)

Przemysł spożywczy, a w tym mleczarski dostarcza zwiększających się ilości wytwarzanych osadów ściekowych, których składowanie stanowi zagrożenie dla środowiska przyrodniczego, ponieważ istnieje niebezpieczeństwo, że biogeny zawarte w osadach przedostaną się do wód gruntowych, powodując ich skażenie. Azot w osadach ściekowych występuje głównie w formie organicznej, a jego przemiany prowadzą do powstawania gazowych produktów (NO_x , N_2 , NH_3), które mogą przyczyniać się do zanieczyszczenia atmosfery. Niezbędne jest więc unieszkodliwienie tych odpadów w sposób najbardziej przyjazny dla środowiska przyrodniczego. Jednym ze sposobów unieszkodliwiania osadów ściekowych jest ich rolnicze zagospodarowanie, również ze względu na to, że posiadają one znaczne właściwości nawozowe: charakteryzują się dużą zawartością substancji organicznej, makro- i mikroelementów, a przede wszystkim dużą zawartością azotu (ponad dwa razy

większą niż w oborniku). Spośród wielu sposobów zagospodarowania osadów ściekowych najbardziej uzasadnione jest ich rolnicze wykorzystanie ze względu na to, że składniki pokarmowe występujące w osadach wracają do gleby, użyźniając ją.

W związku z kontynuacją problematyki badań z zakresu rolniczego zagospodarowania osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich moje zainteresowania i tematyka prac badawczych dotyczyły w szczególności:

- Mikrobiologicznych i biochemicznych wskaźników żyzności i produktywności gleb w wyniku rolniczego zagospodarowania osadów ściekowych z mleczarni, ze szczególnym uwzględnieniem aktywności enzymatycznych (II.A.5., II.A.6., II.A.11., II.D.1., II.D.2., II.D.9.-II.D.12). Osady ściekowe stosowane do użyźnienia gleby płowej i brunatnej wpływały na ogół na wzrost aktywności enzymów (dehydrogenaz, ureazy, proteazy). Nasilenie procesów enzymatycznych uzależnione było od dawki osadu ściekowego i indywidualnych właściwości enzymu, jak też typu gleby zastosowanej w badaniach. Stymulujące oddziaływanie osadu ścieków mleczarskich na aktywność enzymatyczną gleb nasilało się wraz ze zwiększeniem ilości odpadu wprowadzonego do gleby. W toku przeprowadzonych badań zaobserwowano również istotną stymulację rozwoju mikroorganizmów w glebie nawożonej osadem oraz wzrost aktywności respiracyjnej gleby.
- Strat azotu w glebach wzbogaconych osadem z oczyszczalni ścieków mleczarskich w wyniku procesu mineralizacji substancji organicznej i dysymilacyjnej redukcji azotanów (II.D.5.). Badania dotyczyły wydzielania CO₂, N₂O i NH₃ z gleby płowej i brunatnej nawożonej zróżnicowanymi dawkami osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich. Uzyskane wyniki badań wykazały istotny wzrost emisji gazów cieplarnianych z gleby po wprowadzeniu osadu ścieków mleczarskich. Efekt ten nasilał się wraz z zastosowaniem wyższych dawek odpadu.
- Wpływu osadu ściekowego z mleczarni na naturalnie przebiegające w glebie procesy mikrobiologiczne, których zakłócenie prowadzi do niekorzystnych zmian w środowisku glebowym (amonifikacja, nityfikacja) (II.A.6., II.A.11.). Uzyskane wyniki wykazały, że osad ścieków mleczarskich wprowadzony do gleby nie zakłócił w sposób istotny nasilenia procesów amonifikacji i nityfikacji. Zastosowane testy biochemiczne okazały się jednak czułymi indykatorami zmian w środowisku glebowym.
- Możliwości stosowania osadu ściekowego z mleczarni w połączeniu z różnymi dawkami słomy - rozszerzenie C:N (II.D.3.). Przeprowadzone badania wykazały istotny wzrost aktywności respiracyjnej gleby po zastosowaniu osadu ścieków mleczarskich i słomy. Uzyskane wyniki wskazują jednoznacznie, że wprowadzenie do gleby osadu ścieków mleczarskich łącznie ze słomą sprzyja rozwojowi mikroorganizmów, poprzez dostarczenie łatwo dostępnych źródeł węgla i energii.
- Wpływu osadu ściekowego z mleczarni na zawartość metali ciężkich w glebie (II.D.6.). Ponieważ stosowanie osadu ściekowego do nawożenia gleb może stanowić zagrożenie dla środowiska glebowego ze względu na zawartość metali ciężkich, w ramach prowadzonych badań określono również wpływ zastosowanego osadu ściekowego z mleczarni na zawartość metali ciężkich w glebie. Przeprowadzone badania wykazały, że

wprowadzenie osadu ścieków mleczarskich do gleby nie spowodowało istotnego wzrostu zawartości metali ciężkich w badanej glebie.

- Zagrożeń mikrobiologicznych wynikających z rolniczego zagospodarowania osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich (II.A.7.). Celem przeprowadzonych badań była ocena sanitarna osadu ścieków mleczarskich higienizowanego i niehigienizowanego popiołem węgla brunatnego oraz gleb poddanych działaniu tego odpadu. Analizy obejmowały określenie liczebności bakterii grupy *coli* metodą fermentacyjną probówkową na podłożu płynnym z laktozą i purpurą bromokrezolową. Przeprowadzone badania wykazały, że osad ścieków mleczarskich charakteryzował się niską liczebnością badanych mikroorganizmów. Badania mikrobiologiczne gleby pobranej z różnych obiektów doświadczalnych wykazały obecność bakterii z grupy *coli* w próbkach gleby, jednak liczebność tych bakterii kształtowała się na ogół na bardzo niskim poziomie, zbliżonym do obiektów kontrolnych.
- Analizy profilu katabolicznego (CLPP) gleby brunatnej nawożonej osadem z oczyszczalni ścieków mleczarskich (II.A.12.). Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu osadu ścieków mleczarskich na tło nawożenia mineralnego na różnorodność funkcjonalną mikroorganizmów glebowych. Przeprowadzone badania wykazały istotny wzrost różnorodności funkcjonalnej w glebie nawożonej osadem w porównaniu do kontroli oraz obiektów z nawożeniem mineralnym.

W zakresie zagadnień dotyczących osadu ścieków mleczarskich została wykonana również przedstawiona wcześniej moja rozprawa habilitacyjna (Zał. 6), jak również prace monograficzne (II.D.1.-II.D.3.) oraz 1 publikacja przeglądowa (II.D.7.).

Uzyskane wyniki badań zawarte w wymienionych opracowaniach mają również duże znaczenie praktyczne. Pozwalają na prawidłową ocenę zmian właściwości środowiska glebowego w warunkach rolniczego zagospodarowania osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich. Przeprowadzone badania wykazały, że osad ścieków mleczarskich wpływa korzystnie na właściwości mikrobiologiczne i biochemiczne gleb i może być uznawany za produkt wartościowy pod względem nawozowym.

Ad 2)

Badania z zakresu oceny jakości mikrobiologicznej nasion rzepaku, a tym samym uzyskanie wysokiej jakości surowca, bezpośrednio przekładają się na jakość produktów finalnych – tłuszczów roślinnych, wyciągu rzepakowego, śruty poekstrakcyjnej. Rzepak w przeciągu całego sezonu wegetacyjnego narażony jest na rozwój patogenów pochodzenia grzybowego, bakteryjnego i wirusowego, co wpływa na jakość surowca, jak również produktów końcowych otrzymanych w wyniku uprawy tej rośliny. W związku z tym podjęcie takiej tematyki wydaje się jak najbardziej uzasadnione również z punktu widzenia praktyki rolniczej.

Moje zainteresowania naukowe, realizowane w badaniach zespołowych, są również ukierunkowane na problematykę dotyczącą wpływu regulatorów wzrostu i desykantów w uprawie rzepaku na środowisko glebowe, jak również zagadnień związanych z mikrobiologiczną jakością nasion rzepaku:

- Obejmują one zagadnienia związane z wpływem chemicznych środków ochrony roślin na aktywność mikrobiologiczną gleby w uprawie rzepaku. Efektem badań z tego zakresu są komunikaty konferencyjne, dotyczące wpływu desykantów i regulatorów wzrostu na nasilenie amonifikacji i nityfikacji w glebie pod uprawą rzepaku (III.B.39.), aktywność proteolityczną gleby po zastosowaniu wybranych środków chemicznych w różnych terminach stosowania (III.B.41.-III.B.43.) oraz liczebność i aktywność mikroorganizmów w wyniku stosowania herbicydu basta (III.B.57.-III.B.58.).
- Badania prowadzone przeze mnie związane są również z ograniczeniem strat ilościowych i jakościowych surowca w całym cyklu powstawania, przechowywania i przetwarzania rzepaku ze szczególnym uwzględnieniem zagrożeń mikologicznych. Badania przeprowadzone w tym zakresie dotyczyły oceny jakości mikrobiologicznej nasion rzepaku, a wyniki prac badawczych zostały opublikowane w 1 oryginalnej pracy twórczej (II.A.8.). Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu desykantów i regulatorów wzrostu roślin na mikroorganizmy występujące na powierzchni nasion rzepaku, ze szczególnym uwzględnieniem mikrogrzybów. Przeprowadzone badania wykazały, że liczebność bakterii zmniejszała się w wyniku zastosowania chemicznych środków ochrony roślin. W przypadku grzybów stwierdzono zahamowanie lub stymulację ich rozwoju, w zależności od zastosowanego środka chemicznego. Wśród grzybów najczęściej izolowanych z powierzchni nasion stwierdzono obecność przedstawicieli z rodzaju *Cladosporium*, *Penicillium* i *Alternaria*.

Ad 3)

Realizując badania w ramach działalności statutowej IA PAN moje zainteresowania naukowe ukierunkowane były na ocenę wpływu sposobu użytkowania i wybranych właściwości fizykochemicznych na aktywność mikrobiologiczną gleby. Badania te realizowałam w ramach tematu pt. „Wpływ stanu fizycznego gleby na wzrost i rozwój roślin”, kierowanego przez prof. dr hab. Jerzego Lipca. Efekty podjętych badań zaprezentowane zostały w dwóch opublikowanych sprawozdaniach (II.E.2., II.E.3.), jednej publikacji naukowej (II.D.14.) oraz komunikatach konferencyjnych (III.B.48., III.B.52.). Celem przeprowadzonych badań było określenie oddziaływania systemu uprawy roślin (konwencjonalnego – monokultury i ekologicznego) na populacje mikrogrzybów i aktywność mikroorganizmów środowiska glebowego. Przeprowadzone badania wykazały, że gleba spod pszenicy uprawianej w systemie ekologicznym charakteryzowała się większą liczebnością bakterii i grzybów oraz wyższą aktywnością respiracyjną w stosunku do gleby uprawianej w systemie konwencjonalnym (monokulturze). Liczebność badanych mikroorganizmów oraz aktywność oddechowa obniżała się w niższej warstwie profilu glebowego. Wyższą aktywność mikroorganizmów glebowych, świadczącą o dobrej jakości gleby i udostępnianiu roślinom składników odżywczych, stwierdzono w systemie ekologicznej uprawy pszenicy. Stwierdzono, że gleba uprawiana w systemie ekologicznym charakteryzowała się korzystniejszym z punktu widzenia zdrowotności roślin składem rodzajowym i gatunkowym grzybów, niż uprawiana konwencjonalnie.

W ramach badań statutowych realizowałam również zadanie dotyczące zmian aktywności biochemicznej ryzosfery wybranych roślin uprawnych w różnych warunkach uprawy. Celem

przeprowadzonych badań była ocena wpływu występowania szaty roślinnej na aktywność enzymatyczną i zróżnicowanie genetyczne mikroorganizmów w różnych warstwach gleby. Badania zostały przeprowadzone w oparciu o doświadczenie poletkowe założone na glebie brunatnej wytworzonej z lessu. Przeprowadzone badania wykazały, że obecność szaty roślinnej miała stymulujący wpływ na metabolizm mikroorganizmów glebowych i obniżała się wraz ze wzrostem głębokości gleby. Największe zróżnicowanie genetyczne bakterii nityfikacyjnych stwierdzono w powierzchniowej warstwie gleby ugorowanej, co mogło być związane z nienaruszoną strukturą gleby oraz ze zwiększoną akumulacją węgla organicznego i składników pokarmowych, które nie zostały wykorzystane przez rośliny i mogły być źródłem energii dla wzrostu mikroorganizmów. Rezultaty przeprowadzonych badań przedstawione zostały na konferencji naukowej (III.B.62.).

Moja praca naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia doktora obejmowała również udział w badaniach zespołowych z zakresu:

- Oddziaływania kwaśnych opadów na mikroorganizmy glebowe i ich aktywność biochemiczną. Kontynuując współpracę z Katedrą Mikrobiologii Rolniczej uczestniczyłam w badaniach kierowanych przez prof. dr hab. S. Jeziorską-Tys. Degradujący wpływ kwaśnych opadów prowadzi do niekorzystnych zmian w środowisku glebowym oraz przyczynia się do zanieczyszczenia środowiska naturalnego. Ponieważ we wcześniejszych badaniach stwierdzono pozytywny wpływ nawożenia organicznego w postaci gnojowicy w glebie zasiarowanej na aktywność mikrobiologiczną gleby, dlatego też celowe wydawało się podjęcie podobnej problematyki badawczej w odniesieniu do aktywności enzymatycznej gleby. Wyniki badań uzyskane z tego zakresu wykazały, że zastosowana dawka siarki (81 mg S kg^{-1}) i gnojowicy ($40 \text{ cm}^3 \text{ kg}^{-1}$) nie wywarła istotnego wpływu na zmiany aktywności dehydrogenaz w glebie płowej. Stwierdzono natomiast hamujący wpływ zasiarczenia na aktywność ureazy i proteazy. Rezultaty podjętych badań zostały opublikowane w 1 oryginalnej pracy naukowej (II.A.4.).

W dalszych badaniach oceniałam również wpływ różnych dawek substratu węglowego na nasilenie wydzielania CO_2 z gleby zasiarowanej, a otrzymane wyniki badań wskazują, że efekt ten nasilał się wraz ze wzrostem zasiarczenia i ilością substratu węglowego dodanego do gleby (II.A.3.).

- Oceny wpływu zagęszczenia i ściółkowania gleby na jej aktywność mikrobiologiczną (II.A.13., III.B.20., III.B.27., III.B.28., III.B.49., III.B.51., III.B.65.). Przeprowadzone badania we współpracy z dr Anną Siczek obejmowały określenie aktywności wybranych enzymów glebowych oraz liczebności bakterii w glebie o różnym stopniu zagęszczenia. Wyniki badań wskazują, że w glebie silnie zagęszczonej nastąpiło obniżenie, a w glebie średnio zagęszczonej odnotowano wzrost aktywności enzymatycznej. Zastosowane ściółkowanie spowodowało stymulację rozwoju bakterii w glebie niezależnie od poziomu zagęszczenia. Wyniki uzyskanych badań związane były z wprowadzeniem składników pokarmowych oraz węgla organicznego wraz ze słomą wykorzystaną do ściółkowania gleby.

Rozpoczynając pracę naukową w Instytucie Agrofizyki PAN w Lublinie nawiązałam współpracę naukową z prof. Paolo Nannipierim, światowym autorytetem w dziedzinie

mikrobiologii gleby, posiadającym wieloletnie doświadczenie z zakresu technik biologii molekularnej wykorzystywanych w badaniach środowiskowych. Pod kierunkiem Pana Profesora i współpracowników (Prof. Giacomo Pietramelara, Dr. Judith Ascher, Dr. Maria Teresa Ceccherini) w 2008 roku odbyłam miesięczny staż we Florence University (Florence, Włochy) (III.L.2.). Podczas stażu naukowego na Uniwersytecie we Florencji we Włoszech, uczestniczyłam w projekcie badawczym dotyczącym badania zmienności mikroorganizmów glebowych techniką DGGE. Efektem tej wizyty było opracowanie przeze mnie projektu badawczego, dotyczącego różnorodności zespołów mikroorganizmów strefy korzeniowej roślin w wyniku nawożenia osadem z oczyszczalni ścieków mleczarskich, który złożyłam w konkursie MNiSW na projekty badawcze. Uzyskując pozytywną decyzję, dotyczącą finansowania projektu pt. „Różnorodność populacji mikroorganizmów i aktywność biochemiczna strefy korzeniowej wybranych roślin uprawnych w wyniku rolniczego zagospodarowania osadów z oczyszczalni ścieków mleczarskich” (2010-2013) (II.I.2.), rozpoczęłam dalsze badania nad oddziaływaniem osadu na mikroorganizmy środowiska glebowego. Badania prowadzone przeze mnie zostały poszerzone o badania ryzosfery oraz populacji mikroorganizmów występujących w strefie korzeniowej roślin uprawnych pod wpływem nawożenia osadem z oczyszczalni ścieków mleczarskich. Warsztat badawczy poszerzyłam o badania oparte na nowoczesnych technikach, obejmujących metody biologii molekularnej. Aktualnie trwają jeszcze badania realizowane w ramach w/w projektu, a ich efektem są wstępne wyniki, opublikowane w 2 rozprawach naukowych (II.A.11., II.A.12.), 1 pracy przeglądowej (B I.10.) oraz zaprezentowane na kilku krajowych (III.B.53., III.B.60., III.B.61.) i międzynarodowych (III.B.26., III.B.32.) konferencjach naukowych.

W latach 2010-2011 kierowałam projektem badawczym w ramach Programu Iuventus Plus (II.I.3.) finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Prowadzone przeze mnie badania dotyczyły charakterystyki zbiorowisk grzybów występujących w wybranych odpadach organicznych. W ramach realizacji projektu przeprowadziłam badania obejmujące wyodrębnienie z odpadów, identyfikację i charakterystykę właściwości biochemicznych wybranych szczepów grzybów oraz ocenę ich przydatności w degradacji odpadów. Z uwagi na zagrożenia dla środowiska przyrodniczego związane z ciągle rosnącą ilością odpadów przemysłowych i komunalnych przeprowadzone badania dotyczyły ważnego obszaru o potencjalnym znaczeniu aplikacyjnym. Rezultaty badań opublikowałam w formie monografii (Zał. 6), którą przedstawiłam jako moje największe osiągnięcie w działalności naukowej. Wyniki badań zaprezentowałam również na kilku krajowych (III.B.55., III.B.56., III.B.59.) i międzynarodowych (III.B.23., III.B.24.) konferencjach naukowych.

Obecnie kieruję realizacją 2 projektów badawczych finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (projekt badawczy własny (II.I.2.)) oraz Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (Program LIDER (II.I.5.)). Prowadzone przeze mnie aktualnie badania naukowe dotyczą głównie zagadnień związanych z różnorodnością populacji mikroorganizmów i aktywnością biochemiczną strefy korzeniowej roślin uprawnych z uwzględnieniem:

- bakterii nitryfikacyjnych występujących w glebie i osadzie ścieków mleczarskich;
- zróżnicowania mikroorganizmów w glebie nawożonej osadem ścieków mleczarskich;

- wpływu osadu ścieków mleczarskich na aktywność respiracyjną i enzymatyczną strefy korzeniowej na tle gleby pozaryzosferowej.

Badania zespołów mikroorganizmów gleby oraz ryzosfery są niezwykle ważne z punktu widzenia plonowania i zdrowotności roślin, a zwłaszcza identyfikacji gatunków potencjalnie fitopatogenicznych. Różnorodność i aktywność mikroorganizmów glebowych jest niezmiernie ważna dla utrzymania dobrej jakości gleb i ich wysokiej produktywności. Utrzymanie równowagi w funkcjonowaniu agroekosystemu i zapewnienie odpowiedniego poziomu produkcji rolnej wymaga ciągłego monitorowania zachodzących zmian właściwości mikrobiologicznych i biochemicznych gleb. Wprowadzenie metod biologii molekularnej, wykorzystujących analizę kwasów nukleinowych do badań środowiskowych stworzyło możliwość bezpośredniej oceny struktury zespołów mikroorganizmów (*microbial community*) różnych środowisk. Metody biologii molekularnej w analizie składu mikrobiocenoz w glebach i odpadach są coraz częściej wykorzystywane do oceny wpływu czynników antropogenicznych na różnorodność mikrobiologiczną tych środowisk, w celu określenia stanu ekologicznego gleb. W prowadzonych badaniach wykorzystuję zaawansowane techniki biologii molekularnej (m.in. PCR-DGGE, sekwencjonowanie) oraz nowoczesne metody stosowane w mikrobiologii środowiskowej (m.in. system BIOLOG).

W 2011 roku rozpoczęłam badania dotyczące możliwości zastosowania biopreparatów do optymalizacji procesu fermentacji metanowej – w tym zakresie podjęłam badania nad opracowaniem preparatu do optymalizacji procesu fermentacji metanowej, które dotyczą w szczególności:

- charakterystyki potencjalnych substratów do procesu fermentacji metanowej (zwłaszcza odpadów rolniczych i pochodzących z przemysłu rolno-spożywczego) wraz z oceną mikrobiologiczną tych odpadów oraz oceną właściwości mikroorganizmów wyodrębnionych z odpadów;

- monitorowania rozwoju mikroorganizmów w masie fermentacyjnej wraz z określeniem właściwości enzymatycznych tych drobnoustrojów oraz oddziaływania preparatu otrzymanego z wybranych szczepów mikroorganizmów na przebieg procesu fermentacji;

- możliwości zagospodarowania osadów pofermentacyjnych i ich wpływu na środowisko glebowe.

Przeprowadzone dotąd badania zaowocowały opracowaniem dwóch prac przeglądowych w zakresie możliwości wykorzystania procesu fermentacji metanowej w unieszkodliwianiu odpadów rolniczych i pochodzących z przemysłu rolno-spożywczego (II.A.14., II.A.15.). Rezultaty rozpoczętych badań zaprezentowałam również na międzynarodowych (III.B.29.-III.B.31., III.B.33., III.B.34.) i krajowych (III.B.54., III.B.63., III.B.64.) konferencjach naukowych.

Wzrost znaczenia sektora energetyki, związanego z wytwarzaniem energii ze źródeł odnawialnych jest i będzie w najbliższej przyszłości najbardziej dynamicznie rozwijającym się sektorem gospodarki światowej, co było inspiracją do opracowania przeze mnie 2 prac przeglądowych, dotyczących możliwości wykorzystania mikroalg (II.A.9., II.D.13.) w sektorze energii odnawialnej oraz jednego hasła encyklopedycznego, które zostało umieszczone w encyklopedii anglojęzycznej, wydanej przez wydawnictwo Springer – Encyclopedia of Agrophysics (II.D.4.).

W 2012 roku odbyłam staż naukowy w dwóch ośrodkach naukowych we Włoszech, wykonując badania aktywności enzymatycznej gleby z zastosowaniem metod fluorymetrycznych (Centro di Ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo w Gorizii) (III.L.3.) oraz prowadząc badania zmienności bakterii występujących w środowisku glebowym techniką elektroforezy w gradiencie żelu denaturującego (Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, del Suolo e dell'Ambiente Agroforestale Uniwersytetu we Florencji) (III.L.4.). Wykonane wówczas badania są przeze mnie opracowywane w celu opublikowania uzyskanych wyników w międzynarodowych czasopismach naukowych. Efektem nawiązanej współpracy jest trwające aktualnie opracowywanie wspólnych publikacji naukowych oraz projektu badawczego.

Mój dorobek publikacyjny obejmuje ponad 100 publikacji naukowych i komunikatów konferencyjnych. Jestem autorem lub współautorem 37 oryginalnych prac twórczych i przeglądowych, w tym 15 w czasopismach z IF. Aktualnie opracowuję kolejne prace naukowe. Mój całościowy dorobek naukowy wg punktacji MNiSW, zgodnie z rokiem publikacji wynosi 367 punktów, z czego 42 uzyskałam przed obroną doktoratu. Sumaryczny Impact Factor dla opublikowanych przeze mnie publikacji wynosi 15,32 (wszystkie opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora), liczba cytowań według bazy Web of Science wynosi 25, a indeks Hirscha 2 według bazy Web of Science i 3 według bazy Scopus. W ciągu całego okresu pracy zawodowej po uzyskaniu stopnia doktora brałam czynny udział w realizacji 11 projektów badawczych (II.I.2.-II.I.12.) i 1 projektu infrastrukturalnego (II.I.1.). W 5 projektach byłam kierownikiem (II.I.1.-II.I.5.).

W ciągu ostatnich dwóch lat oprócz pracy naukowej, aktywnie uczestniczyłam w realizacji projektu inwestycyjnego finansowanego z funduszy strukturalnych Unii Europejskiej pt. „Środowiskowe Laboratorium Energii Odnawialnej”, realizowanego w Instytucie Agrofizyki w ramach Programu Operacyjnego Rozwój Polski Wschodniej 2007-2013, pełniąc rolę kierownika projektu (II.I.1.). W ramach realizacji tego projektu w IA PAN utworzone zostały nowe jednostki naukowo-badawcze, obejmujące 6 laboratoriów i 5 pracowni. Brałam również aktywny udział w utworzeniu w Instytucie Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej, a od sierpnia 2010 roku pełnię funkcję opiekuna tegoż laboratorium. Samodzielnie zaplanowałam zarówno rozwiązania technologiczne zastosowane w w/w laboratorium, jak również zakres wyposażenia, urządzeń i aparatury naukowo-badawczej, w którą została wyposażona wymieniona jednostka. Sprawując nadzór merytoryczny nad Laboratorium Mikrobiologii, koordynuję pracę czteroosobowego zespołu, a inwencja twórcza oraz chęć rozwiązywania problemów związanych z obszarem ochrony środowiska i mikrobiologii środowiskowej sprawia, że moje zainteresowania naukowe oraz zakres badań wykonywanych w laboratorium są stale poszerzane.

Podczas pracy naukowej brałam czynny udział w wielu kongresach, spotkaniach i konferencjach międzynarodowych (III.B.1.-III.B.3., III.B.16.-III.B.34.) i krajowych (III.B.4.-III.B.15., III.B.35.-III.B.65.), prezentując wyniki w formie ustnej lub w formie posterów. Spośród 7 prezentacji ustnych (II.K.1-II.K.7.), 3 wygłosiłam w języku angielskim (II.K.4., II.K.5., II.K.7.). Uczestniczyłam również w pracach komitetów organizacyjnych konferencji i

seminariów naukowych (III.C.1.-III.C.3.) oraz brałam czynny udział w zorganizowaniu i przeprowadzeniu warsztatów naukowych z mikrobiologii środowiskowej (III.C.4.). Pełniłam także funkcję redaktora materiałów konferencyjnych pt. „Agrofizyka w badaniach środowiska przyrodniczego” (II.E.1.).

W ramach pracy naukowej współpracuję z ośrodkami naukowymi w całym kraju, m.in. Katedrą Mikrobiologii Środowiskowej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Instytutem Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej, Instytutem Ekologii Terenów Uprzemysłowionych w Katowicach, Instytutem Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach, Uniwersytetem Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, jak również Okręgową Spółdzielnię Mleczarską w Krasnymstawie, Oczyszczalnią Ścieków Komunalnych oraz innymi podmiotami sektora przemysłu rolno-spożywczego, jak też jednostkami Instytutu Agrofizyki PAN w Lublinie. Wykonywane przeze mnie badania mają często charakter aplikacyjny, związany z zagospodarowaniem odpadów, ochroną środowiska i praktyką rolniczą. Tematyka mojej pracy naukowej skupia się na badaniach w obszarze mikrobiologii środowiskowej, a w szczególności mikrobiologicznych i biochemicznych właściwościach gleby i odpadów organicznych z uwzględnieniem metod molekularnych oraz poszukiwaniu szczepów mikroorganizmów przydatnych w procesach przetwarzania, detoksykacji i biologicznej degradacji odpadów. Prowadząc ścisłą współpracę z zakładami przemysłu rolno-spożywczego i sektora ochrony środowiska wykonałam kilka ekspertyz, dotyczących problemów mikrobiologicznych w procesach produkcyjnych (III.M.1.-III.M.5.). Jestem również członkiem Zespołu Problemowego „BIO” w ramach Konsorcjum ECOTECH-COMPLEX (III.E.1.), którego celem jest współpraca w zakresie pozyskiwania i realizacji wspólnych projektów badawczych.

Rozwijając współpracę naukową uczestniczyłam w programach europejskich, takich jak: Program Sąsiedztwa Polska-Białoruś-Ukraina INTERREG (III.A.1.) oraz Programie Operacyjnym Współpracy Transgranicznej Republika Czeska – Rzeczpospolita Polska (III.A.3.). Zostałam również zaproszona do udziału w warsztatach naukowych „Current status and developments in soil microorganism community research with Omics approaches”, zorganizowanych w ramach Programu LIFE+ Unii Europejskiej (III.A.2.), które odbyły się w Tallinie (Estonia), gdzie przedstawiłam referat dotyczący badań prowadzonych przeze mnie w zakresie identyfikacji bakterii i grzybów z wykorzystaniem metod biologii molekularnej (II.K.7.).

W latach 2008-2012 wykonałam 19 recenzji artykułów naukowych dla 9 czasopism o zasięgu międzynarodowym (III.P.1.-III.P.9.), 6 recenzji projektów badawczych (III.O.2.) oraz 1 recenzję raportu końcowego z projektu rozwojowego (III.O.1.). Od 2011 roku jestem również ekspertem oceny wniosków i ofert złożonych w konkursach oraz oceny dotyczącej realizacji projektów, którymi zarządza Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (III.N.1.).

W trakcie mojej pracy zawodowej brałam udział w licznych kursach i szkoleniach (III.Q.6.a.-III.Q.6.f.), a także studiach podyplomowych (III.Q.7.a.-III.Q.7.b.), dotyczących merytorycznych zagadnień w zakresie mikrobiologii środowiskowej i biologii molekularnej oraz wykorzystania nowoczesnych metod w badaniach środowiskowych. Pozwoliło mi to na opanowanie obsługi wielu aparatów i urządzeń laboratoryjnych, m.in. analizatora genetycznego. Zapoznałam się z zasadami identyfikacji genetycznej i charakterystyki

metabolicznej bakterii i grzybów oraz wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych w analizie uzyskanych wyników. Odbyłam również cykl studiów podyplomowych dla pracowników jednostek naukowych w zakresie kierowania projektami badawczymi i zarządzania badaniami naukowymi (III.Q.8.a.-III.Q.8.d.). Zdobyte doświadczenie mogłam wykorzystać zarówno w opracowywaniu wniosków projektowych, jak również w koordynowaniu badań prowadzonych pod moim kierunkiem, zarówno w projektach badawczych, jak też w działalności statutowej IA PAN.

Od początku mojej pracy naukowej brałam czynny udział w prowadzeniu ćwiczeń z mikrobiologii na studiach stacjonarnych i niestacjonarnych, podczas studiów doktoranckich. Byłam również opiekunem magistrantów, którzy wykonywali badania i przygotowywali prace dyplomowe pod kierunkiem prof. dr hab. Stefanii Jezierskiej-Tys. Efektem mojego zaangażowania w działalność dydaktyczną było opracowanie w 2006 roku współautorskiego przewodnika do ćwiczeń z mikrobiologii rolniczej (III.I.1.), a następnie w 2009 roku kolejnej publikacji dydaktycznej, będącej uzupełnioną i rozbudowaną wersją w/w przewodnika (III.I.2.). W roku akademickim 2011/2012 opracowałam i prowadziłam wykłady dla doktorantów (III.I.3.), obejmujące zagadnienia mikrobiologii środowiskowej w ramach przedmiotu Kształtowanie Środowiska Glebowego. Jestem również naukowym opiekunem pomocniczym dwóch Doktorantów (III.K.1., III.K.2.), wykonujących badania w obszarze mikrobiologii środowiskowej. Od października 2011 roku koordynuję badania dotyczące oddziaływania osadów pofermentacyjnych z biogazowni rolniczej na aktywność mikrobiologiczną i biochemiczną gleby, wykonywane przez doktorantkę mgr Annę Kot w ramach Studiów Doktoranckich prowadzonych w Instytucie Agrofizyki PAN w Lublinie. W roku akademickim 2012/2013 rozpoczęłam również współpracę w zakresie wykonywanych badań z Doktorantką I roku SD, mgr Natalią Kotowicz, której badania dotyczą charakterystyki patogenów grzybowych w uprawie pszenicy, z uwzględnieniem ich wrażliwości na fungicydy. Podczas pracy naukowej przeszkoliłam kilku wolontariuszy, stażystów i studentów (III.J.1.-III.J.3., III.Q.1.-III.Q.5.), odbywających pod moim kierunkiem praktyki w Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej. Decyzją Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki PAN z dnia 01.06.2012 roku zostałam powołana na kierownika tematu badawczego pt. „Aktywność mikrobiologiczna gleby i odpadów organicznych”, który realizowany będzie w ramach działalności statutowej IA PAN w roku 2013.

Jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, Polskiego Towarzystwa Mykologicznego, Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego oraz Międzynarodowej Unii Towarzystw Gleboznawczych (III.H.1.-III.H.4.).

W czasie mojej pracy zawodowej wielokrotnie otrzymywałam Dyplom Uznania JM Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie za osiągnięcia naukowe udokumentowane publikacjami naukowymi (II.J.1.-II.J.4.). Zostałam również wyróżniona Dyplomem Uznania JM Rektora Akademii Rolniczej w Lublinie za działalność dydaktyczną (III.D.1.). W roku 2012 uzyskałam także Stypendium Dyrektora IA PAN dla młodych naukowców (II.J.5.).

Magdalena Frąc