

AUTOREFERAT

w postępowaniu habilitacyjnym
w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie ochrona i kształtowanie środowiska

dr inż. Małgorzata Baćmaga

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

Olsztyn, 2018 r.

Spis treści

1. Dane personalne.....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.....	3
3. Odbyte staże.....	4
4. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	4
5. 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	4
A. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	4
B. Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.....	5
C. Omówienie celu naukowego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.....	6
D. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.....	22
D.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk rolniczych.....	22
D.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora nauk rolniczych.....	23
E. Wskaźniki naukometryczne.....	33

Małgorzata Baćmaga
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa
Katedra Mikrobiologii
Plac Łódzki 3
10-727 Olsztyn

1. Dane personalne

Imię i Nazwisko: **Małgorzata Baćmaga**

Miejsce pracy: Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Katedra Mikrobiologii.

Dane kontaktowe: 89 523 44 39

e-mail: m.bacmaga@uwm.edu.pl

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

2008 r. – uzyskanie doktora nauk rolniczych w zakresie kształtowanie środowiska, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

Tytuł rozprawy doktorskiej: *Aktywność biologiczna gleby zanieczyszczonej herbicydami.*

Promotor: prof. dr hab. Jan Kucharski

Recenzenci: prof. dr hab. Jadwiga Wyszowska (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie)

prof. dr hab. Andrzej Nowak (Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie)

2004 r. – uzyskanie tytułu zawodowego magistra inżyniera, kierunek Ochrona Środowiska (studia stacjonarne II stopnia lata 2003–2004), Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

Tytuł pracy magisterskiej: *Produktywność oraz charakterystyka biomasy klonów wierzb krzewiastych (Salix spp.) jako biopaliwa.*

Promotor: prof. dr hab. Stefan Szczukowski

2003 r. – uzyskanie tytułu zawodowego inżyniera, kierunek Ochrona Środowiska (studia stacjonarne I stopnia lata 1999–2003), Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

3. Odbyte staże

1. **Staż zawodowy** w Dziale Laboratoryjnym w Okręgowej Stacji Chemiczno-Rolniczej w Olsztynie; **od 01.10.2009 r. do 31.10.2009 r.**
2. **Staż naukowy** w Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa w Olsztynie, Laboratorium fitosanitarne; **od 01.10.2017 r. do 31.10.2017 r.**
3. **Staż naukowy** w Instytucie Ochrony Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym w Białymstoku, Laboratorium Badania Pozostałości Pestycydów; **od 04.12.2017 r. do 17.12.2017 r.**

4. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- **Adiunkt**, Katedra Mikrobiologii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, **od 01.10.2009 r.**
- **Asystent**, Katedra Mikrobiologii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, **01.10.2008 r. – 30.09.2009 r.**
- **Studia doktoranckie**, Katedra Mikrobiologii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, **01.10.2004 r. – 18.09.2008 r.**

5. 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. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

A. Tytuł osiągnięcia naukowego

Mikroorganizmy i enzymy glebowe wykorzystywane w szacowaniu zmian zachodzących w glebie poddanej działaniu fungicydów

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl pięciu powiązanych tematycznie oryginalnych prac naukowych opublikowanych w latach 2015–2018, z których **4** prace ukazało się w czasopiśmie znajdujących się w bazie Journal Citation Reports. Sumaryczny impact factor

(zgodnie z rokiem wydania) publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego według bazy Journal Citation Reports (JCR) wynosi **7,340**, zaś sumaryczna liczba punktów według MNiSW (zgodnie z rokiem wydania) – **124**.

B. Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Oświadczenia wszystkich współautorów określające wkład w powstanie poszczególnych publikacji znajdują się w Załączniku nr 5.

Punktację MNiSW oraz wartość IF według bazy JCR dla publikacji podano zgodnie z rokiem ich wydania.

- B.1. Baćmaga M. (80%),** Kucharski J. (5%), Wyszowska J. (15%). 2015. *Microbial and enzymatic activity of soil contaminated with azoxystrobin. Environmental Monitoring and Assessment*, 187, 615.

MNiSW₍₂₀₁₅₎ – 25 pkt, IF₍₂₀₁₅₎ – 1,633

- B.2. Baćmaga M. (75%),** Wyszowska J. (15%), Kucharski J. (10%). 2016. *The effect of the Falcon 460 EC fungicide on soil microbial communities, enzyme activities and plant growth. Ecotoxicology*, 25, 1575–1587.

MNiSW₍₂₀₁₆₎ – 30 pkt, IF₍₂₀₁₆₎ – 1,951

- B.3. Baćmaga M. (70%),** Wyszowska J. (15%), Kucharski J. (15%). 2017. *Bioaugmentation of soil contaminated with azoxystrobin. Water, Air & Soil Pollution*, 228, 19.

MNiSW₍₂₀₁₇₎ – 25 pkt, IF₍₂₀₁₇₎ – 1,769

- B.4. Baćmaga M. (85%),** Wyszowska J. (10%), Kucharski J. (5%). 2018. *The influence of chlorothalonil on the activity of soil microorganisms and enzymes. Ecotoxicology*, 27, 1188–1202.

MNiSW₍₂₀₁₇₎ – 30 pkt, IF₍₂₀₁₇₎ – 1,987

- B.5. Baćmaga M. (70%),** Wyszowska J. (10%), Kucharski J. (10%), Kaczyński P. (10%). 2018. *Changes in microbiological properties of soil during fungicide degradation. Soil Science Annual*, 69(3), 169–176.

MNiSW₍₂₀₁₈₎ – 14 pkt, IF₍₂₀₁₈₎ – brak

C. Omówienie celu naukowego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

C.1. Wstęp

Do czynników antropogenicznych wpływających na pogorszenie jakości gleby należą fungicydy, które w światowej produkcji spośród wszystkich pestycydów obok herbicydów i insektycydów dominują w strukturze sprzedaży (Carvalho 2017). Preparaty te odznaczają się dużą skutecznością w ochronie roślin przed chorobami grzybowymi, ale także prowadzą do zwiększenia plonowania roślin. Pomimo pozytywnych aspektów, wykorzystywanie tych preparatów niesie za sobą wiele konsekwencji, które mogą być odległe w czasie (Rani i in. 2017). Fungicydy, aby nie stanowiły zagrożenia dla środowiska naturalnego powinny charakteryzować się niską trwałością i mobilnością oraz szybkim zanikaniem w poszczególnych elementach biosfery (Chatterjee i in. 2013). Jednak może dojść do przeniknięcia tych preparatów do środowiska, głównie glebowego, poprzez nieprawidłowe ich stosowanie lub niekontrolowane wycieki. W wyniku tego może nastąpić zachwianie homeostazy gleby poprzez zmiany w liczebności i bioróżnorodności drobnoustrojów, a także w ich aktywności (Chen i in. 2015; Jalali i in. 2016; Kumar i in. 2017; Lal i in. 2017; Wang i in. 2016). Innym skutkiem działania fungicydów może być zakłócenie procesów biochemicznych gleby (Sanchez-Hernandez i in. 2017; Senko i in. 2017; Yan i in. 2011). Tak więc nadmierne stosowanie fungicydów jest nadal poważnym problemem wpływającym na jakość naszego środowiska (Joly i in. 2015; Walia i in. 2014). Odpowiednim parametrem, który może być wykorzystany do oceny zmian zachodzących pod wpływem tych preparatów są mikroorganizmy i enzymy glebowe (Zhang i in. 2014). Drobnoustroje decydują o prawidłowym funkcjonowaniu gleby, obiegu materii i przepływie energii oraz przemianach związków występujących w tym ekosystemie. Drobnoustroje dzięki dużej aktywności metabolicznej i właściwościom enzymatycznym mogą przyczynić się do zwiększenia oporności gleby na fungicydy poprzez rozkład tych substancji (Oliveira i in. 2009). Mikrobiologiczny rozkład fungicydów jest jednym z podstawowych mechanizmów zapobiegającym nagromadzeniu się tych substancji w glebie. Proces ten przeprowadzany jest przez konsorcja mikroorganizmów produkujących enzymy, dzięki którym powstałe produkty metabolizmu mogą być przez nie wykorzystywane jako źródło składników odżywczych i

energii do wzrostu i rozwoju. Zdolności te mogą być wykorzystane w procesach bioremediacji terenów zanieczyszczonych pestycydami (Chennappa i in. 2014). Zanikanie ich w środowisku glebowym zależy od wielu czynników wśród, których należy wymienić strukturę i właściwości chemiczne substancji aktywnej, tworzenie połączeń z innymi związkami oraz biodegradowalność (Kızılkaya i in. 2012). Istotne znaczenie mają także czynniki środowiskowe, tj. rodzaj gleby, temperatura, pH, zawartość materii organicznej, a przede wszystkim aktywność mikroorganizmów glebowych (Ju i in. 2016). Ze względu na fakt, że środki ochrony roślin mogą potencjalnie wywierać toksyczny wpływ na organizmy inne niż zamierzone, nastąpiło znaczne zainteresowanie określeniem ich oddziaływania na mikroorganizmy glebowe oraz na procesy zachodzące w tym środowisku (Guo i in. 2015). Trwałość i stabilność niektórych fungicydów w środowisku glebowym może doprowadzić do silnego jego zanieczyszczenia (Shi i in. 2011). Aby zapobiegać takim skutkom działania tych środków na życie biologiczne gleby można zastosować substancje neutralizujące (np. kompost, obornik, słoma, bentonit), które łagodzą negatywne ich działanie. Zastosowanie takich substancji może korzystnie wpłynąć na funkcjonowanie środowiska glebowego poddanego działaniu fungicydów (Adams i in. 2015; Pimmata i in. 2013).

Pomimo występowania wielu zagrożeń środowiska naturalnego wynikającego ze stosowania fungicydów, są one nadal niezbędne w skutecznej ochronie roślin uprawnych przed chorobami grzybowymi. Jednak względy ekologiczne wymagają, aby poczynić kroki zmierzające w kierunku obserwacji zachowania się tych preparatów w środowisku oraz oceny ryzyka wynikającego z ich stosowania (Chen i in. 2011). Ye i in. (2018) podają, że aż 80–90% stosowanych fungicydów przenika do środowiska przyrodniczego, zaś tylko niewielki procent (1–2%) tych środków działa na organizmy docelowe. Pozostała ilość (10–20%) adsorbuje się na powierzchni roślin.

Przesłanki te stały się inspiracją do przeprowadzenia badań nad oceną zmian zachodzących w środowisku glebowym pod wpływem przedostających się fungicydów, ze szczególnym uwzględnieniem parametrów mikrobiologicznych i biochemicznych. Bardzo istotne jest zrozumienie interakcji pomiędzy organizmami zasiedlającymi glebę a wprowadzonymi do niej fungicydami.

Podstawą opracowania było sformułowanie hipotez badawczych.

Hipotezy badawcze:

- 1) mikroorganizmy glebowe mają różny udział i potencjał w degradacji fungicydów (zał. 3: B.1, B.2);

- 2) bioaugmentacja i stymulacja gleby wpływa na poprawę jej aktywności biologicznej (zał. 3: B.3, B.4);
- 3) różnorodność genetyczna bakterii ulega zmianie w glebie zanieczyszczonej fungicydami (zał. 3: B.5).

Nadrzędnym celem badań przedstawionych w jednotematycznym cyklu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego była ocena oddziaływania fungicydów na aktywność biologiczną gleby w oparciu o zmiany namnażania się mikroorganizmów, aktywność enzymów i strukturę zespołów bakterii oraz określenie skuteczności remediacji gleby zanieczyszczonej fungicydami poprzez zastosowanie bioaugmentacji i stymulacji mikrobioty glebowej.

Aby zrealizować cel nadrzędny konieczne było sformułowanie następujących celów cząstkowych, a mianowicie:

- 1) określenie udziału poszczególnych grup mikroorganizmów w degradacji fungicydów (zał. 3: B.1, B.2, B.3, B.4, B.5);
- 2) zidentyfikowanie mikroorganizmów wykazujących cechy adaptacyjne w glebie zanieczyszczonej fungicydami (zał. 3: B.1, B.2);
- 3) ocena skuteczności wykorzystania bioaugmentacji i stymulacji w remediacji gleby zanieczyszczonej fungicydami (zał. 3: B.3, B.4);
- 4) określenie różnorodności bakterii w glebie poddanej działaniu fungicydów (zał. 3: B.5).

Zakres badań

W przeprowadzonych pracach składających się na osiągnięcie naukowe wykorzystano glinę piaszczystą (zał. 3: B.1, B.2, B.3, B.4, B.5) i piasek gliniasty (zał. 3: B.3, B.4). Badania te obejmowały ocenę aktywności biologicznej gleby potraktowanej fungicydami Amistar 250 SC (zał. 3: B.1, B.3, B.5), Falcon 460 EC (zał. 3: B.2, B.5) i Gwarant 500 SC (zał. 3: B.4, B.5). Preparat Amistar 250 SC i Gwarant 500 SC zostały wprowadzone na Polski rynek w 2011 roku, a Falcon 460 EC w 2009 roku.

Amistar 250 SC to preparat, który w swoim składzie zawiera azoksystrobinę (250 g dm^{-3}). Substancja ta należy do związków z grupy strobilurin.

Falcon 460 EC składa się z trzech substancji aktywnych: spiroksaminy w ilości 250 g dm⁻³ (związek z grupy ketoamin), tebukonazolu – w ilości 167 gdm⁻³ (związek z grupy triazoli) oraz triadimenolu w ilości 43 g dm⁻³ (związek z grupy triazoli).

W skład preparatu Gwarant 500 SC wchodzi chlorotalonil w ilości 500 g dm⁻³, który należy do związków z grupy ftalanów.

Metodyka badań

Badania składające się na osiągnięcie naukowe przeprowadzone były w 4 doświadczeniach modelowych laboratoryjnych (zał. 3: B.1, B.2, B.3, B.5) i 1 wazonowym wegetacyjnym (zał. 3: B.4). Zakres wykonanych analiz w materiale glebowym obejmował:

- 1) określenie liczebności drobnoustrojów (bakterii organotroficznych, promieniowców i grzybów) metodą seryjnych rozcieńczeń (zał. 3: B.1, B.2, B.4);
- 2) określenie aktywności enzymów tj.: dehydrogenaz stosując 3% wodny roztwór chlorku 2,3,5-trifenylo-tetrazoliowego, katalazy – 3% nadtlenek wodoru, ureazy – 10% roztwór mocznika, fosfatazy kwaśnej i fosfatazy alkalicznej – di-sodu 4-nitrofenylofosforan (zał. 3: B.1, B.2, B.3, B.4, B.5), arylosulfatazy – 4-nitrofenylosiarczan potasu i β -glukozydaza – 4-nitrofenylo- β -D-glukozydaza (zał. 3: B.5);
- 3) wykonanie identyfikacji bakterii na podstawie sekwencji genu kodującego 16S rRNA za pomocą pary starterów: B-all dla: GAG TTT GAT CCT GGC TCA G i B-all Rev: ACG GCT ACC TTA CGA CTT, zaś grzybów pleśniowych w oparciu o sekwencję regionu ITS przy użyciu starterów ITS1: TTC GTA GGT GAA CCT GCG G oraz ITS4: TCC TCCGCT TAT TGATAT GC (zał. 3: B.1, B.2);
- 4) określenie różnorodności genetycznej bakterii na podstawie genu kodującego 16S rRNA metodą sekwencjonowania następnej generacji (NGS) w oparciu o hiperzmieniony region V3-V4. Sekwencjonowanie przeprowadzono na sekwenatorze MiSeq (Illumina) w firmie Genomed S.A (zał. 3: B.5);
- 5) określenie toksyczności fungicydów przy pomocy testu Phytotoxkit F z zastosowaniem nasion roślin *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum* i *Sinapis alba* oraz na podstawie plonowania pszenicy jarej (zał. 3: B.2, B.4);
- 6) oznaczenie pozostałości fungicydów w próbkach gleby metodą chromatografii gazowej (GC-EC) za pomocą detektora wychwyty elektronów (zał. 3: B.3, B.4) oraz metodą chromatografii cieczowej (Eksigent Ultra LC-100 Eksigent Technologies,

Dublin, CA, USA) w połączeniu ze spektrometrem masowym 6500 QTRAP (zał. 3: B.5).

Aby przeprowadzić proces bioaugmentacji wykorzystano mikroorganizmy, które wyizolowano z gleby zanieczyszczonej azoksystrobiną w ilości 22,50 mg kg⁻¹ s.m. gleby. Do inokulacji gleby zastosowano szczepy bakterii *Bacillus* spp. LM655314.1, *Bacillus cereus* KC848897.1, *Bacillus weihenstephanensis* KF831381.1, *Bacillus megaterium* KJ843149.1 oraz grzybów pleśniowych *Aphanoascus terreus* AB861677.1 i *Aphanoascus fulvescens* JN943451.1 (zał. 3: B.3). Z kolei w stymulacji gleby poddanej działaniu chlorotalonilu zastosowano dwa preparaty użyźniające: Lignohumat Super i Bioilsa N 12,5 (zał. 3: B.4).

W przeprowadzonych badaniach obliczono:

- 1) indeks rozwoju kolonii (CD) oraz współczynnik ekofizjologicznej różnorodności (EP) w oparciu o namnażanie się mikroorganizmów (zał. 3: B.1, B.2);
- 2) liczbę kolonii wyrastających w określonych przedziałach czasowych (K_s) (zał. 3: B.4);
- 3) indeks oporności (RS) gleby na zanieczyszczenie fungicydami na podstawie aktywności enzymów (zał. 6: B.1, B.2) oraz plonowania pszenicy jarej (zał. 3: B.4);
- 1) wskaźnik powrotu gleby do stanu równowagi (RL) biologicznej zanieczyszczonej fungicydami na podstawie aktywności enzymów glebowych (zał. 3: B.1);
- 2) procent inhibicji bądź stymulacji kiełkowania nasion (ISG) i wzrostu korzeni (IRG) (zał. 3: B.2).

W celu prawidłowego wnioskowania, uzyskane wyniki badań opracowano statystycznie stosując:

- wieloczynnikową analizę wariancji z wykorzystaniem testu Tukey'a (zał. 3: B.1, B.2, B.3, B.4, B.5);
- współczynniki korelacji prostej Pearsona (zał. 3: B.1, B.2, B.4);
- procent obserwowanej zmienności η^2 (zał. 3: B.1, B.2, B.3, B.4, B.5);
- analizę skupień (CA) (zał. 3: B.1, B.2, B.4);
- wielowymiarową analizę głównych składowych (PCA) (zał. 3: B.1, B.2, B.3, B.4);
- otrzymane sekwencje DNA podjednostki 16S rRNA bakterii porównano, korzystając z oprogramowania bazy danych BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), z kolei

region ITS grzybów porównano przy pomocy programu Internal Transcribed Spacer (zał. 3: B.1, B.2);

- na podstawie uzyskanych sekwencji nukleotydów zidentyfikowanych mikroorganizmów utworzono drzewo filogenetyczne w programie MEGA 6.0 stosując metodę „neighbor-joining” (zał. 3: B.1, B.2).

C.2. Omówienie celu naukowego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

W opisanych pracach stanowiących osiągnięcie naukowe skupiono się na trzech problemach badawczych, a mianowicie na: (1) strukturze mikroorganizmów zdolnych do degradacji fungicydów w glebie, (2) wykorzystaniu bioaugmentacji i stymulacji w procesie remediacji gleb zanieczyszczonych oraz (3) różnorodności genetycznej bakterii gleby zanieczyszczonej fungicydami.

Pierwszy problem badawczy, czyli określenie struktury mikroorganizmów zdolnych do degradacji fungicydów, został podjęty w pracy B.1 i B.2 (zał. 3). W przeprowadzonych badaniach materiałem glebowym wykorzystanym w doświadczeniu była glina piaszczysta. Do gleby w odpowiednich obiektach, jednorazowo zaaplikowano wodny roztwór fungicydu Amistar 250 SC (substancja aktywna azoksystrobina) i Falcon 460 EC (mieszanina spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu). Preparat Amistar 250 SC wprowadzono do gleby w przeliczeniu na substancję aktywną w dawce 0,075, 2,25, 11,25 i 22,50 mg kg⁻¹ s.m. gleby, zaś Falcon 460 EC w ilości 0,092, 2,76, 13,8 i 27,6 mg kg⁻¹ s.m. gleby. Odniesieniem była gleba bez dodatku fungicydów. Badania modelowe laboratoryjne prowadzono w trzech terminach 30, 60 i 90 dni.

Wykazano, że bakterie organotroficzne i promieniowce intensywniej namnażały się w glebie zanieczyszczonej fungicydami niż grzyby. W przypadku grzybów zaobserwowano wyraźne zahamowanie ich rozwoju. Zależności te świadczą o tym, że bakterie i promieniowce mają większy udział w degradacji fungicydów niż grzyby. O zróżnicowanych zdolnościach drobnoustrojów w rozkładzie tych preparatów w środowisku glebowym dowodzą zmiany jakie nastąpiły w różnorodności i strukturze zespołów mikroorganizmów szacowane w oparciu o indeks rozwoju kolonii (CD) oraz wskaźnik ekofizjologicznej różnorodności drobnoustrojów (EP). Zaistniałe zmiany w glebie zanieczyszczonej fungicydami zostały uwidocznione w zachwianiu proporcji pomiędzy r-strategami i K-strategami, co zostało potwierdzone przez indeks CD. Odnotowano, że wartości tego indeksu w glebie

zanieczyszczonej fungicydami zwiększały się w przypadku bakterii organotroficznych i promieniowców, zaś grzybów uległy zmniejszeniu. Dowiedziono, że wśród bakterii organotroficznych i promieniowców dominują gatunki szybko rosnące, które charakteryzują się większą zdolnością do adaptacji w glebie zanieczyszczonej fungicydami niż grzyby, a przez to i większym potencjałem do degradacji tych zanieczyszczeń. Dzięki określeniu wskaźnika EP w glebie traktowanej fungicydami istotną obserwacją było wypieranie gatunków bakterii i promieniowców wrażliwych na te preparaty przez bardziej odporne. Zwiększenie wartości wskaźnika EP w przypadku tych drobnoustrojów ma również przełożenie w większym ich udziale w zanikaniu fungicydów w glebie niż grzybów. Dużym osiągnięciem w prezentowanych pracach było zidentyfikowanie szczepów bakterii i grzybów, które mają ogromne znaczenie w unieszkodliwianiu i usuwaniu fungicydów z ekosystemów glebowych. Identyfikacja mikroorganizmów pozwoliła stwierdzić, że w glebie zanieczyszczonej fungicydami ogromny potencjał degradacyjny wykazują bakterie z rodzaju *Bacillus*. Wśród grzybów w glebie traktowanej azoksystrobiną zidentyfikowano szczepy należące do *Aphanoascus*, zaś w obiektach z mieszaniną spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu dominowały szczepy przynależne do *Penicillium* i *Rhizopus*.

Intensywność namnażania się mikroorganizmów oraz ich różnorodność świadczy również o aktywności enzymów glebowych, które odgrywają istotną rolę w zanikaniu fungicydów w środowisku glebowym. W baniach tych wykazano, że testowane preparaty oddziaływały inaktywująco na aktywność enzymatyczną gleby. Gwałtowny stres jaki nastąpił po aplikacji toksycznych dawek fungicydów doprowadził do zniszczenia komórek mikroorganizmów wrażliwych na te preparaty, w związku z czym nastąpiło zmniejszenie wydzielania enzymów przez mikroorganizmy. Ponadto to niekorzystne działanie azoksystrobiny oraz mieszaniny spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu na stan środowiska glebowego potwierdzone zostało przez indeks oporności (RS) oraz wskaźnik powrotu gleby do stanu równowagi (RL) określone na podstawie aktywności enzymów glebowych.

Bardzo istotne w ocenie zagrożenia fungicydów w środowisku glebowym było określenie jej toksyczności wobec roślin. Takie badania zostały opisane w pracy **B.2 (zał. 3)**, w której wykonano testy fitotoksyczne oceniające oddziaływanie mieszaniny spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu (Falcon 460 EC) na wzrost i rozwój pieprzycy siewnej (*Lepidium sativum*), gorczycy białej (*Sinapis alba*) i sorga (*Sorghum saccharatum*). Wykazano, że fungicyd ten działał inhibicyjnie na wzrost pieprzycy siewnej, gorczycy białej i sorga po zastosowaniu dawek od 0,092 do 27,60 mg kg⁻¹ s.m. gleby. Najbardziej wrażliwa na

testowany fungicyd była *Sinapsis alba*, która może być stosowana jako roślina wskaźnikowa na terenach zanieczyszczonych mieszaniną spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu.

Podsumowując, opisany obszar badawczy wykazano większy udział bakterii organotroficznych i promieniowców w degradacji fungicydów niż grzybów. Intensywne namnażanie się bakterii organotroficznych i promieniowców w glebie zanieczyszczonej fungicydami świadczy o predyspozycjach tych mikroorganizmów do rozkładu testowanych preparatów. Z kolei w przypadku grzybów nastąpiło zmniejszenie ich aktywności w degradacji fungicydów, gdyż preparaty te wykorzystywane są przeciwko patogenom grzybowym. W glebie zanieczyszczonej azoksystrobiną zidentyfikowałam szczepy bakterii *Bacillus* spp. LM655314.1, *Bacillus cereus* KC848897.1, *Bacillus weihenstephanensis* KF831381.1, *Bacillus megaterium* KJ843149.1 oraz grzybów *Aphanoascus terreus* AB861677.1 i *Aphanoascus fulvescens* JN943451.1. W przypadku gleby traktowanej mieszaniną spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu dominowały bakterie *Bacillus* spp. LM655314.1 i *Bacillus megaterium* KJ843149.1 oraz grzyby *Penicillium* spp. KM249070.1, *Penicillium cyclopium* KJ83269.1, *Rhizopus* spp. KM229698.1 i *Rhizopus oryzae* KM249085.1. Wymienione szczepy mikroorganizmów charakteryzują się zdolnościami do adaptacji w glebie zanieczyszczonej fungicydami, co świadczy o degradacji tych preparatów głównie na drodze mikrobiologicznej. Fungicydy wpływały inhibitoryjnie na aktywność enzymów glebowych, co wynika ze zniszczenia przez te preparaty komórek wrażliwych mikroorganizmów, a tym samym zmniejszenie wydzielanych przez nie enzymów. Wykazano, że mieszanina spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu działała inhibitoryjnie na wzrost roślin *Lepidium sativum*, *Sinapsis alba* i *Sorghum saccharatum*. Największą wrażliwością na ten preparat odznaczała się *Sinapsis alba*, w związku z czym może być wykorzystana jako roślina wskaźnikowa na terenach zanieczyszczonych tym fungicydem.

Kolejne zagadanie dotyczy oceny skuteczności wykorzystania bioaugmentacji (zał. 3: B.3) i stymulacji (zał. 3: B.4) w procesie remediacji gleb zanieczyszczonych fungicydami.

W pracy **B.3** określono wpływ bioaugmentacji gleby traktowanej azoksystrobiną na szybkość zanikania tej substancji aktywnej w glebie oraz na poprawę aktywności enzymatycznej gleby. Badania modelowe laboratoryjne prowadzono przez 90 dni na piasku gliniastym i glinie piaszczystej. Materiał glebowy zanieczyszczono azoksystrobiną w ilości 22,50 mg kg⁻¹ s.m. gleby. Do inokulacji gleby wykorzystano mikroorganizmy wyizolowane z gleby zanieczyszczonej azoksystrobiną, które pochodziły z doświadczenia opisanego w pracy **B.1 (zał. 3)**. W badaniach tych wykorzystano następujące szczepy bakterii: *Bacillus* spp. LM655314.1, *Bacillus cereus* KC848897.1, *Bacillus weihenstephanensis* KF831381.1,

Bacillus megaterium KJ843149.1 oraz grzybów: *Aphanoascus terreus* AB861677.1, *Aphanoascus fulvescens* JN943451.1. Dowiedziono, że degradacja azoksystrobiny była istotnie uzależniona od rodzaju zastosowanej gleby oraz zastosowanego inokulum mikroorganizmów. Bioaugmentacja gleby była bardziej skuteczna w zanikaniu azoksystrobiny w piasku gliniastym niż w glinie piaszczystej. W glebie szczepionymi mikroorganizmami degradacja azoksystrobiny przebiegała intensywniej niż w glebie nieszczepionej. W obiektach nieszczepionych drobnoustrojami azoksystrobina w obydwu glebach została zdegradowana w 45%. W piasku gliniastym największym potencjałem degradacyjnym charakteryzowały się grzyby (degradacja azoksystrobiny w 88%), natomiast w glinie piaszczystej mieszanina konsorcjum bakterii i grzybów (degradacja azoksystrobiny w 61%). Zwiększenie szybkości zanikania azoksystrobiny w glebie poddanej bioaugmentacji można wyjaśnić zwiększeniem przemian katabolicznych w degradacji azoksystrobiny w wyniku inokulacji gleby konsorcjum mikroorganizmów. Ważną kwestią w omawianej pracy było określenie skuteczności bioaugmentacji gleby zanieczyszczonej azoksystrobiną w podnoszeniu aktywności enzymatycznej gleby. Szczepienie gleby konsorcjum drobnoustrojów spowodowało zwiększenie szybkości degradacji azoksystrobiny w glebie, co w efekcie doprowadziło do wzrostu aktywności wszystkich analizowanych enzymów glebowych (oksydoreduktaz, fosfataz i ureazy). Wzrost aktywności enzymatycznej gleby świadczy o dużych zdolnościach adaptacyjnych zastosowanych mikroorganizmów w procesie bioaugmentacji do panujących warunków środowiska glebowego, które uległy zmianom pod wpływem testowanego fungicydu.

Niekorzystne działanie fungicydów na środowisko glebowe można ograniczyć poprzez stosowanie stymulacji mikrobioty glebowej. Takie rozwiązania zostały zaprezentowane w publikacji **B.4 (zał. 3)**, w której opisano efektywność substancji użyźniających Lignohumat Super i Bioilsa N 12,5 w łagodzeniu negatywnych skutków działania chlorotalonilu na aktywność biologiczną gleby.

Badania wegetacyjne wazonowe wykonano w dwóch terminach (19 i 50 dzień). W doświadczeniu wykorzystano dwie gleby różniące się składem granulometrycznym oraz właściwościami fizykochemicznymi (piasek gliniasty i glina piaszczysta). Do materiału glebowego zaaplikowano chlorotalonil w formie preparatu Gwarant 500 SC w następujących dawkach (w przeliczeniu na substancję aktywną): 0,00; 0,166; 1,660 i 16,60 mg kg⁻¹ s.m. gleby. Aby zmniejszyć ewentualne negatywne działanie chlorotalonilu na aktywność biologiczną gleby w odpowiednich obiektach dodano substancje użyźniające Lignohumat Super i Bioilsa N 12,5. Wykazano, iż reakcja drobnoustrojów na wprowadzony do gleby

chlorotalonil była zróżnicowana. Jedne drobnoustroje namnażały się intensywnie, inne zaś były bardzo wrażliwe na testowany preparat. Określenie liczby kolonii wyrastających w określonych przedziałach czasowych (K_s) dowiodło, że w glebie traktowanej chlorotalonilem przeważały gatunki bakterii organotroficznych i grzybów szybko rosnące, zaś wśród promieniowców występowały gatunki wolno rosnące. Pomimo stymulującego działania testowanego fungicydu na namnażanie się bakterii i grzybów, takie zależności nie wystąpiły w przypadku aktywności enzymów glebowych. Udowodniono negatywne działanie chlorotalonilu poprzez aktywność enzymów glebowych. Jednoznacznie negatywnie preparat ten wpływał na aktywność dehydrogenaz, katalazy i fosfatazy kwaśnej. Aby gleba po przeniknięciu do niej chlorotalonilu zachowała swoje prawidłowe funkcje zastosowano substancje użyźniające prowadzące do przyspieszenia rozkładu tego fungicydu. Dlatego też suplementowano glebę preparatem Lignohumat Super i Bioilsa N 12,5, które zasobne są w substancję organiczną niezbędną w procesie transformacji zanieczyszczeń. Po wprowadzeniu do gleby substancji użyźniających odnotowano intensywny wzrost namnażania się mikroorganizmów, co mogło doprowadzić do zwiększenia szybkości zanikania chlorotalonilu. Dowiedziono, że stymulacja gleby preparatami użyźniającymi wywierała różny wpływ na aktywność enzymów glebowych. Skuteczność tego zabiegu uwarunkowana była rodzajem gleby oraz substancji użyźniającej. W piasku gliniastym nastąpiło zwiększenie aktywności wszystkich badanych enzymów. Zasobność tych preparatów w substancję organiczną poprawiło warunki środowiska glebowego zdegradowanego przez działanie chlorotalonilu, przez co nastąpił wzrost namnażania się mikroorganizmów, a tym samym i aktywności enzymów. Z kolei po dodaniu preparatów Lignohumat Super i Bioilsa N 12,5 do gliny piaszczystej nastąpiło zmniejszenie aktywności dehydrogenaz i fosfatazy kwaśnej. Nagromadzenie się substancji organicznej w glebie doprowadziło do unieruchomienia enzymów na powierzchni materii organicznej, przez co nastąpiło zmniejszenie ich wydzielania, a tym samym zahamowanie rozkładu chlorotalonilu w glebie. Zanikanie chlorotalonilu wynikało nie tylko z namnażania się mikroorganizmów oraz aktywności enzymów glebowych, ale także determinowane było rodzajem gleby i zastosowaną substancją użyźniającą. Wykazano, że chlorotalonil po suplementacji gleby preparatem Bioilsa N 12,5 zanikał szybciej niż w glebie bez dodatku tej substancji. Okazało się, że w obiektach z Bioilsą N 12,5 chlorotalonil został rozłożony w 84% w piasku gliniastym i 87% w glinie piaszczystej. Podczas, gdy w glebie kontrolnej chlorotalonil uległ degradacji w 70% w piasku gliniastym i w 80% w glinie piaszczystej. Stwierdzono także, że zbyt duża ilość materii organicznej w glebie może doprowadzić do opóźnienia zanikania fungicydów w środowisku glebowym.

Takie tendencje odnotowano po dodaniu do materiału glebowego preparatu Lignohumat Super. Zaobserwowano zmniejszenie szybkości degradacji chlorotalonilu po aplikacji do gleby tego preparatu. Suplementacja gleby zanieczyszczonej chlorotalonilem była nieskuteczna w ograniczaniu negatywnego wpływu fungicydów na plonowanie pszenicy jarej.

Podsumowując, stwierdzono, że bioaugmentacja gleby autochtonicznymi szczepami drobnoustrojów jest bardzo skuteczna w remediacji gleb zanieczyszczonych azoksystrobiną. Zanikanie azoksystrobiny w glebie determinowane było rodzajem gleby oraz zastosowanym inokulum mikroorganizmów. W glebie, w której obecne były tylko rodzime mikroorganizmy degradacja azoksystrobiny przebiegała wolniej niż w obiektach inokulowanych. W piasku gliniastym największą aktywność do degradacji azoksystrobiny wykazywało konsorcjum grzybów *Aphanoascus terreus* AB861677.1 i *Aphanoascus fulvescens* JN943451.1, zaś w glinie piaszczystej konsorcjum składające się z mieszaniny bakterii (*Bacillus* spp. LM655314.1, *Bacillus cereus* KC848897.1, *Bacillus weihenstephanensis* KF831381.1, *Bacillus megaterium* KJ843149.1) i grzybów (*Aphanoascus terreus* AB861677.1, *Aphanoascus fulvescens* JN943451.1). Azoksystrobina zaaplikowana w dawce 22,50 mg kg⁻¹ s.m. gleby szybciej ulegała transformacji w piasku gliniastym niż w ginie piaszczystej. Bioaugmentacja gleby spowodowała zwiększenie aktywności dehydrogenaz, katalazy, ureazy, fosfatazy kwaśnej i fosfatazy alkalicznej. Aktywność dehydrogenaz i katalazy w obydwu glebach zwiększała się po wprowadzeniu inokulum składającego się z konsorcjum bakterii (*Bacillus* spp. LM655314.1, *Bacillus cereus* KC848897.1, *Bacillus weihenstephanensis* KF831381.1, *Bacillus megaterium* KJ843149.1). Konsorcjum bakterii wpływało również aktywnie na ureazę w piasku gliniastym i fosfatazę alkaliczną w glinie piaszczystej. Z kolei mieszanina bakterii i grzybów stymulująco oddziaływała na aktywność fosfatazy kwaśnej w piasku gliniastym oraz ureazy w ginie piaszczystej. Inokulacja gleby grzybami (*Aphanoascus terreus* AB861677.1, *Aphanoascus fulvescens* JN943451.1) okazała się najmniej skuteczna w zwiększaniu aktywności biochemicznej gleby. Korzystny wpływ konsorcjum grzybów odnotowało wyłącznie w przypadku aktywności fosfatazy alkalicznej w piasku gliniastym. Ten korzystny wpływ bioaugmentacji gleby na jej aktywność biochemiczną i szybkość degradacji azoksystrobiny spowodowany był między innymi konkurencyjnością wprowadzonych szczepów względem rodzimych mikroorganizmów. Może być to również wynikiem wypierania ze środowiska gatunków mikroorganizmów wrażliwych przez gatunki odporne na działanie azoksystrobiny. Suplementacja gleby preparatami użyźniającymi Lignohumat Super i Bioilsa N 12,5, która potraktowana została chlorotalonilem nie do końca przyniosła oczekiwane rezultaty. Spośród testowanych preparatów Bioilsa N 12,5 okazała się

bardziej przydatna w rewitalizacji gleby zanieczyszczonej chlorotalonilem. Substancja ta przyspieszała degradację chlorotalonilu w glebie. Takiej tendencji nie odnotowano w przypadku preparatu Lignohumat Super, a wręcz przeciwnie, stwierdzono zahamowanie rozkładu chlorotalonilu przez tę substancję użyźniającą. Suplementacja gleby substancjami użyźniającymi nie złagodziła negatywnego działania chlorotalonilu na aktywność enzymów glebowych. Wykazano również, że dodatek do gliny piaszczystej zarówno preparatu Lignohumat Super jak i Bioilsa N 12,5 zahamowało aktywność dehydrogenaz i fosfatazy kwaśnej. Wiąże się to ze zbyt dużą zawartością materii organicznej w testowanych preparatach użyźniających, która doprowadziła do sorpcji tych enzymów, czego efektem było zmniejszenie ich aktywności. Na tej podstawie stwierdzono, że w przywracaniu homeostazy gleby zachwianej przez wysokie dawki chlorotalonilu najbardziej skuteczna jest Bioilsa N 12,5.

Ostatni problem badawczy jaki został podjęty w pracy B.5 (zał. 3) dotyczy zmian różnorodności genetycznej bakterii gleby zanieczyszczonych fungicydami. Praca ta jest podsumowaniem dotychczasowych badań składających się na osiągnięcie naukowe, gdyż przeanalizowano w niej wpływ fungicydów wykorzystanych we wcześniejszych publikacjach, na stan środowiska glebowego. Aby ocenić działanie tych środków na środowisko glebowe wykonano badania modelowe laboratoryjne na glinie piaszczystej. Powietrznie suchą masę gleby zanieczyszczono w odpowiednich obiektach azoksystrobiną (Amistar 250 SC), mieszaniną spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu (Falcon 460 EC) i chlorotalonilem (Gwarant 500 SC). Preparaty te zaaplikowano na kilogram gleby w następujących dawkach (w przeliczeniu na substancje aktywne): azoksystrobiną – 22,50 mg, mieszanina spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu – 27,60 mg (spiroksamina – 15,00 mg, tebukonazol – 10,02 mg i triadimenol – 2,58 mg) oraz chlorotalonil – 49,80 mg. Materiał glebowy inkubowany był w kontrolowanych warunkach. Po okresie 2 miesięcy określono różnorodność bakterii, aktywność enzymów oraz pozostałości substancji aktywnych fungicydów. Oznaczenie różnorodności bakterii w glebie metodą sekwencjonowania następnej generacji (NGS) wykazało, że dominują bakterie należące do Proteobacteria, Firmicutes i Actinobacteria. W glebie zanieczyszczonej azoksystrobiną i chlorotalonilem charakterystyczny był *Arthrobacter psychrophilus*, a *Bacillus simplex* dla gleby zanieczyszczonej mieszaniną spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu. W glebie niezanieczyszczonej fungicydami dominował *B. aryabhattai*. Chlorotalonil wyeliminował z gleby *B. aryabhattai*, *B. soli* i *B. simplex*, zaś doprowadził do namnożenia się *Kribbella ginsengisoli*. Testowane fungicydy poprzez zmianę różnorodności bakterii doprowadziły

również do modyfikacji w aktywności enzymatycznej gleby. W glebie zanieczyszczonej fungicydami nastąpiło zahamowanie aktywności większości badanych enzymów, co może być wynikiem zniszczenia mikroorganizmów bytujących w glebie przez nadmierne ilości fungicydów. Zmiany jakie zaszły w różnorodności bakterii, a tym samym i aktywności enzymów glebowych zdecydowały o szybkości degradacji testowanych fungicydów w glebie. Dowiedziono, że największe zmiany w strukturze zespołów bakterii spowodował chlorotalonil. Doprowadził on do pojawiania się gatunków bakterii, które okazały się odporne na działanie chlorotalonilu, w związku z czym jego degradacja w glebie przebiegała najszybciej (został zdegradowany aż w 87%). Z kolei spiroksamina wchodząca w skład mieszaniny tebukonazolu i triadimenolu najwolniej ulegała transformacji w glebie (została zdegradowana tylko w 7%). Ten powolny rozkład może wynikać z synergicznego działania mieszaniny tych substancji, co w efekcie doprowadziło do wyeliminowania z gleby bakterii zdolnych do rozkładu spiroksaminy.

Podsumowując, ten problem badawczy wykazano, że zanieczyszczenie gleby fungicydami prowadzi do zmian w różnorodności bakterii oraz aktywności enzymów glebowych. Odnotowano, że bakterie należące do *Bacillus* dominował zarówno glebie kontrolnej jak i zanieczyszczonej fungicydami, zaś *Pseudonocardia* była charakterystyczna dla gleb zanieczyszczonych fungicydami. *Alicyclobacillus* oraz *Cohenella* były obecne wyłącznie w glebie kontrolnej i z azoksystrobiną. Z kolei *Balneimonas*, *Kouleothrix*, *Gemmatimonas*, *Hyphomicrobium* i *Skermanella* występowały w obiektach z chlorotalonilem. Występowanie tych bakterii w glebie wskazuje na ich wysoką tolerancję w stosunku do zanieczyszczenia gleby fungicydami. Testowane fungicydy wprowadzone do gleby w ilości zanieczyszczającej okazały się silnymi inhibitorami aktywności enzymów glebowych. Na azoksystrobinę oraz mieszaninę spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu najbardziej wrażliwa była katalaza, zaś na chlorotalonil – dehydrogenazy. Świadczy to o tym, iż enzymy wewnątrzkomórkowe są mniej stabilne w środowisku glebowym poddanym działaniu fungicydów niż enzymy zewnątrzkomórkowe. Wykazano również, że degradacja fungicydów ma ścisły związek z różnorodnością bakterii, w związku z tym testowane preparaty były degradowane w różnym stopniu przez mikroorganizmy autochtoniczne. W glebie zanieczyszczonej chlorotalonilem różnorodność bakterii była największa, czego rezultatem była najszybsza jego degradacja w glebie.

Podsumowanie

Najważniejszym osiągnięciem cyklu zaprezentowanych prac było wskazanie, że:

- 1) W procesie degradacji fungicydów większy udział mają bakterie organotroficzne i promieniowce niż grzyby.
- 2) W glebie zanieczyszczonej azokystrobiną bakterie *Bacillus* spp. LM655314.1, *Bacillus cereus* KC848897.1, *Bacillus weihenstephanensis* KF831381.1, *Bacillus megaterium* KJ843149.1 oraz grzybów *Aphanoascus terreus* AB861677.1 i *Aphanoascus fulvescens* JN943451.1 wykazywały największe zdolności do degradacji tego fungicydu. Z kolei w glebie traktowanej mieszaniną spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu predyspozycje do jej rozkładu wykazywały bakterie *Bacillus* spp. LM655314.1 i *Bacillus megaterium* KJ843149.1 oraz grzyby *Penicillium* spp. KM249070.1, *Penicillium cyclopium* KJ83269.1, *Rhizopus* spp. KM229698.1 i *Rhizopus oryzae* KM249085.1. Potencjał degradacyjny tych mikroorganizmów daje możliwości ich wykorzystania w odnowie gleb zanieczyszczonych fungicydami.
- 3) Gorczyca biała (*Sinapsis alba*) może być rośliną wskaźnikową dla gleb zanieczyszczonych mieszaniną spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu, z kolei pszenica jara (*Triticum aestivum* L.) – przez chlorotalonil.
- 4) Bioaugmentacja okazała się skuteczna w detoksykacji gleby zanieczyszczonej azoksystrobiną w ilości 22,50 mg kg⁻¹ s.m. gleby. Jej efektywność uzależniona była od rodzaju gleby.
- 5) Bardziej skuteczny w przywracaniu równowagi biologicznej gleby zachwianej przez chlorotalonil okazał się preparat Bioilsa N 12,5 niż Lignohumatu Super.
- 6) Obecność w glebie azoksystrobiny (22,50 mg kg⁻¹ s.m. gleby), chlorotalonilu (49,80 mg kg⁻¹ s.m. gleby) oraz mieszaniny spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu (27,60 mg kg⁻¹ s.m. gleby) prowadzi do zmian w różnorodności genetycznej bakterii oraz aktywności enzymatycznej gleby.
- 7) Różnorodność bakterii jest ściśle powiązana ze zdolnością drobnoustrojów do degradacji fungicydów. W glebie traktowanej chlorotalonilem różnorodność bakterii była największa, co zdecydowało o najszybszej degradacji tej substancji aktywnej.
- 8) Aktywność dehydrogenaz, katalazy, ureazy, fosfatazy kwaśnej i arylosulfatazy jest odpowiednim wskaźnikiem zmian zachodzących pod wpływem azoksystrobiny, chlorotalonilu oraz mieszaniny spiroksaminy, tebukonazolu i triadimenolu.

- 9) Aktywność dehydrogenaz, katalazy, ureazy, fosfatazy kwaśnej i arylosulfatazy, różnorodność genetyczna bakterii oraz indeks rozwoju kolonii (CD) i wskaźnik ekofizjologicznego zróżnicowania (EP) drobnoustrojów mogą być wykorzystane nie tylko w biomonitoringu gleb zanieczyszczonych fungicydami, ale również w remediacji gleb z wykorzystaniem metody bioaugmentacji i stymulacji.

Literatura

- Adams G. O., Fufeyin P. T., Okoro S. E., Ehinomen I. 2015. Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: a review. *International Journal of Environmental Bioremediation and Biodegradation*, 3(1): 28–39.
- Carvalho F. P., 2017. Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security*, 6(2): 48–60.
- Chatterjee N. S., Gupta S., Varghese E. 2013. Degradation of metaflumizone in soil: Impact of varying moisture, light, temperature, atmospheric CO₂ level, soil type and soil sterilization. *Chemosphere*, 90: 729–736.
- Chen Q., Yang B., Wang H., He F., Gao Y., Scheel R. A. 2015. Soil microbial community toxic response to atrazine and its residues under atrazine and lead contamination. *Environmental Science and Pollution Research*, 22: 996–1007.
- Chen S., Yang L., Hu M., Liu J. 2011. Biodegradation of fenvalerate and 3-phenoxybenzoic acid by a novel *Stenotrophomonas* sp. strain ZS-S-01 and its use in bioremediation of contaminated soils. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90: 755–767.
- Chennappa G., Adkar-Purushothama C. R., Suraj U., Tamilvendan K., Sreenivasa M. Y. 2014. Pesticide tolerant *Azotobacter* isolated from paddy growing areas of northern Karnataka, India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(1): 1–17.
- Guo, P., Zhu, L., Wang, J., Wang, J., Xie, H., Lv, D. 2015. Enzymatic activities and microbial biomass in black soil as affected by azoxystrobin. *Environmental Earth Sciences*, 74(2): 1353–1361.
- Jalali G., Lakzian A., Astarai A., Haddad-Mashadrizesh A., Azadvar M., Esfandiarpour E. 2016. Effects of land use on the structural diversity of soil bacterial communities in Southeastern Iran. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 13(3): 1739–1747.
- Joly P., Bonnemoy F., Besse-Hoggan P., Perrière F., Crouzet O., Cheviron N., Mallet C. 2015. Responses of limagne “clay/organic matter-rich” soil microbial communities to

- realistic formulated herbicide mixtures, including s-metolachlor, mesotrione, and nicosulfuron. *Water Air and Soil Pollution*, 226: 413.
- Ju C., Xu J, Wu X., Dong F., Liu X., Zheng Y. 2016. Effects of myclobutanil on soil microbial biomass, respiration, and soil nitrogen transformations. *Environmental Pollution*, 208: 811–820.
- Kızılkaya R., Akça İ., Aşkın T., Yılmaz R., Olekhov V., Samofalova I., Mudrykh N. 2012. Effect of soil contamination with azadirachtin on dehydrogenase and catalase activity of soil. *Eurasian Journal of Soil Science*, 2: 98–103.
- Kumar M., Yusuf M. A., Chauhan P. S., Nigam M., Kumar M. 2017. *Pseudomonas putida* and *Bacillus amyloliquefaciens* alleviates the adverse effect of pesticides and poise soil enzymes activities in chickpea (*Cicer arietinum* L.) rhizosphere. *Tropical Plant Research*, 4(3): 405–418.
- Lal G., Hiremath S. M., Chandra K. 2017. Imazethapyr effects on soil enzyme activity and nutrient uptake by weeds and greengram (*Vigna radiata* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(3): 247–253.
- Oliveira C. A., Alves V. M. C., Marriel I. E., Gomes E. A., Scotti M. R., Carneiro N. P., Guimaraes C. T., Schaffert R. E., Sa' N. M. H. 2009. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 1782–1787.
- Pimmata P., Reungsang A., Plangklang P. 2013. Comparative bioremediation of carbofuran contaminated soil by natural attenuation, bioaugmentation and biostimulation. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 85:196–204.
- Rani A., Singh S., Kumar P., Shukla G. 2017. Pros and cons of fungicides: An overview. *International Journal of Engineering Sciences and Research Technology*, 6(1): 112–117.
- Sanchez-Hernandez J. C., Sandoval M., Pierart A. 2017. Short-term response of soil enzyme activities in a chlorpyrifos-treated mesocosm: Use of enzyme-based indexes. *Ecological Indicators*, 73: 525–535.
- Senko O., Maslova O., Efremenko E. 2017. Optimization of the use of his6-OPH-based enzymatic biocatalysts for the destruction of chlorpyrifos in soil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(12): 1438.
- Shi X. Z., Guo R. J., Takagi K., Miao Z. Q., Li S. D. 2011. Chlorothalonil degradation by *Ochrobactrum lupini* strain TP-D1 and identification of its metabolites. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(8): 1755–1764.

- Walia A., Mehta P., Guleria S., Chauhan A., Shirkot C. K. 2014. Impact of fungicide mancozeb at different application rates on soil microbial populations, soil biological processes and enzyme activities in soil. *The Scientific World Journal*, 1–9.
- Wang C., Wang F., Zhang Q., Liang W. 2016. Individual and combined effects of tebuconazole and carbendazim on soil microbial activity. *European Journal of Soil Biology*, 72: 6–13.
- Yan H., Wang D., Dong B., Tang F., Wang B., Fang H., Yu Y. 2011. Dissipation of carbendazim and chloramphenicol alone and in combination and their effects on soil fungal: bacterial ratios and soil enzyme activities. *Chemosphere*, 84, 634-641.
- Ye X., Dong F., Lei X. 2018. Microbial resources and ecology - microbial degradation of pesticides. *Natural Resources Conservation and Research*, 22–28.
- Zhang Q., Zhu L., Wang J., Xie H., Wang J., Wang F., Sun F. 2014. Effects of fomesafen on soil enzyme activity, microbial population, and bacterial community composition. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(5): 2801–2812.

D. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

D.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk rolniczych

Przejawem moich zainteresowań przyrodniczych były studia wyższe na kierunku Ochrona Środowiska, Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie w latach 1999–2004. Pracę magisterską pt. „*Produktywność oraz charakterystyka biomasy klonów wierzb krzewiastych (Salix spp.) jako biopaliwa*” realizowałam w Katedrze Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa.

Po ukończeniu studiów w 2004 roku podjęłam studia doktoranckie w systemie stacjonarnym w Katedrze Mikrobiologii, Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Praca doktorska była realizowana pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Kucharskiego. Podjęte przeze mnie badania dotyczyły oddziaływania herbicydów Harpun 500 SC, Faworyt 300 SL, Akord 180 OF i Mocarz 75 WG na właściwości biologiczne gleby, które wykonano w ramach działalności statutowej prowadzonej przez Katedrę Mikrobiologii nt. „*Rola drobnoustrojów i enzymów w monitoringu środowiska*”. Dostępność do materiałów badawczych i wsparcie naukowe ze strony kadry naukowej pozwoliły mi na szczegółowe zapoznanie się z tym zagadnieniem,

wynikiem czego było powstanie czterech prac (zał. 3: B.1.2, B.1.3, B.1.4, B.1.5). Brałam udział w dwóch konferencjach (zał. 4: D.1.2.1, D.1.2.2), na których zaprezentowałam 3 poster (zał. 3: I.3.3–I.3.5), z których ukazało się 5 komunikatów naukowych (zał. 3: C.2.3–C.2.5). W trakcie studiów doktoranckich w 2007 roku otrzymałam stypendium dla uczestników studiów doktoranckich Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z Europejskiego Funduszu Społecznego Unii Europejskiej w ramach projektu Z/2.28/II/2.6/00015/06 „Transfer wiedzy pomostem do innowacyjności i konkurencyjności gospodarczej regionu – stypendia doktoranckie” (zał. 3: H.1).

Wyniki prowadzonych badań zostały przedstawione w pracy doktorskiej pt. „Aktywność biologiczna gleby zanieczyszczonej herbicydami”, którą po uzyskaniu pozytywnych recenzji obroniłam 1 września 2008 roku. Recenzentami rozprawy doktorskiej byli: prof. dr hab. Jadwiga Wyszowska (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie) oraz prof. dr hab. Andrzej Nowak (Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie). **18 września 2008** roku Rada Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa nadała mi stopień naukowy doktora nauk rolniczych, w dyscyplinie kształtowanie środowiska, specjalność mikrobiologia gleby. Rozprawa doktorska została wyróżniona przez Rektora Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Podczas studiów doktoranckich miałam możliwość pracy w zespole naukowym zajmującym się wpływem metali ciężkich na mikroorganizmy i enzymy glebowe. Efektem tej pracy było powstanie 1 publikacji (zał. 3: B.1.1) oraz 2 komunikatów naukowych na konferencji krajowej (zał. 3: C.2.1, C.2.2).

D.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora nauk rolniczych

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora (18.09.2008 r.) zostałam zatrudniona w Katedrze Mikrobiologii, Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, początkowo na stanowisku asystenta (01.10.2008 r. – 30.09.2008 r.), a następnie (od 01.10.2009 r.) na stanowisku adiunkta. W pierwszych dwóch latach po doktoracie skupiałam się na publikowaniu materiału z rozprawy doktorskiej, w wyniku czego opublikowano 5 prac (zał. 3: B.1.6–B.1.10).

W trakcie mojej pracy uczestniczyłam w badaniach realizowanych przez zespół pracowników Katedry Mikrobiologii, które skoncentrowały się na zagadnieniach dotyczących oddziaływania herbicydów i cynku na stan środowiska glebowego.

W swoim dorobku naukowym po uzyskaniu stopnia doktora wyróżniłam następujące obszary badawcze:

- 1) Wykorzystanie wskaźników mikrobiologicznych i biochemicznych w ocenie zmian zachodzących w glebie pod wpływem herbicydów.
- 2) Zmiany właściwości biologicznych gleby zanieczyszczonej cynkiem oraz możliwości przywracania jej równowagi.

Zagadnienie dotyczące „*Wykorzystanie wskaźników mikrobiologicznych i biochemicznych w ocenie zmian zachodzących w glebie pod wpływem herbicydów*” było realizowane ze środków przeznaczonych na działalność statutową (zał. 3: G.2.2) oraz w ramach projektu badawczego finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz Narodowe Centrum Nauki (zał. 3: G.1.2).

W ramach tematu badawczego z działalności statutowej ukazały się dwie publikacje (zał. 3: A.2, B.1.12). W pracach tych opisano oddziaływanie herbicydu Aurora 40 WG (substancja aktywna karfentrazon etylu) zastosowanego w dawkach zanieczyszczających na aktywność mikrobiologiczną i enzymatyczną gleby. Aby złagodzić negatywne działanie tego herbicydu na właściwości biologiczne gleby zastosowano drobno zmieloną słomę jęczmienia jarego i mączkę bazaltową. Wykazano, że Aurora 40 WG powodowała zmiany w aktywności mikrobiologicznej i biochemicznej gleby oraz plonowaniu jęczmienia jarego, ale po zastosowaniu nadmiernych dawek. Negatywne oddziaływanie testowanego preparatu na właściwości biologiczne gleby skutecznie ograniczała słoma jęczmienia jarego, podczas gdy takich efektów nie odnotowano po dodaniu mączki bazaltowej.

Ze względu na znajomość zagadnienia dotyczącego herbicydów zostałam wcielona jako wykonawca do zespołu naukowego realizującego projekt badawczy pt. „*Określenie mikrobiologicznych i biochemicznych wskaźników diagnozujących stan zanieczyszczenia gleby herbicydami nowej generacji*” w latach 2010–2013 (nr grantu N N305 386 138), którego kierownikiem był prof. dr hab. Jana Kucharskiego (zał. 3: G.1.2). Głównym celem badawczym tego projektu było zbadanie i przeanalizowanie wpływu herbicydów nowej generacji (Alister Grande 190 OD, Aurora 40 WG, Boreal 58 WG, Fuego 500 SC, Lumax 537,5 SE i Successor T 550 SE) na stan środowiska glebowego w oparciu o wskaźniki mikrobiologiczne i biochemiczne gleby. Realizacja tego projektu zaowocowała powstaniem 11 publikacji, z czego 10 znajduje się w czasopismach z listy JCR (zał. 3: A.6, A.7, A.8, A.9, A.10, A.11, A.13, A.14, A.18, A.21) i 1 z listy B (zał. 3: B.1.13). Ponadto wyniki te zaprezentowano na 1 konferencji międzynarodowej (zał. 4: D.1.1.2) oraz 4 konferencjach krajowych (zał. 4: D.1.2.4–D.1.2.7).

Badania przeprowadzono w ściśle kontrolowanych warunkach laboratoryjnych, które znalazły odzwierciedlenie w 5 publikacjach (zał. 3: A.7, A.8, A.10, A.11, A.13) oraz wazonowych wegetacyjnych, które opublikowano w 5 pracach (zał. 3: A.6, A.9, A.14, A.18, A.21).

Przeprowadzone badania laboratoryjne wykazały, że:

- 1) Herbicydy Aurora 40 WG, Boreal 58 WG, Lumax 537,3 SE, Alister Grande 190 OD, Successor T 550 SE i Fuego 500 SC przyczyniły się do zwiększenia namnażania bakterii organotroficznych i bakterii oligotroficznych. Stymulująco na rozwój bakterii oligotroficznych przetrwalnikujących oddziaływał Fuego 500 SC i Successor T 550 SE. Aurora 40 WG spowodowała ograniczenie wzrostu bakterii oligotroficznych przetrwalnikujących, promieniowców oraz grzybów. Największą wrażliwość na testowane herbicydy wykazywał *Azotobacter* spp.
- 2) Herbicydy przyczyniły się do zmian wartości indeksu rozwoju kolonii (CD) oraz wskaźnika ekofizjologicznej różnorodności (EP) drobnoustrojów. Preparat Aurora 40 WG, Successor T 550 SE i Lumax 537,5 SE powodowały wzrost bakterii organotroficznych, promieniowców i grzybów. Testowane preparaty nie powodowały istotnych zmian wartości wskaźnika EP. W przypadku grzybów wszystkie herbicydy obniżały wielkość tego indeksu. Z kolei wartość EP promieniowców uległa zmniejszeniu po wprowadzeniu preparatu Aurora 40 WG, Boreal 58 WG, Fuego 500 SC.
- 3) Successor T 550 SE, Boreal 58 WG i Lumax 537,5 SE spowodowały obniżenie wielkości CD bakterii organotroficznych, zaś Successor T 550 SE, Lumax 537,5 SE i Fuego 500 SC zmniejszenie wartości indeksu CD promieniowców. Zaaplikowanie do gleby herbicydu Aurora 40 WG, Boreal 58 WG i Alister Grande 190 OD doprowadziło do zwiększenia wartości wskaźnika CD grzybów. Herbicyd Boreal 58 WG obniżał wartość wskaźnika EP bakterii organotroficznych, promieniowców i grzybów.
- 4) Herbicydy wpływały hamująco na aktywność dehydrogenaz i arylosulfatazy, zaś stymulująco na aktywność katalazy, fosfatazy alkalicznej i fosfatazy kwaśnej. herbicydy działały inhibicyjnie na aktywność dehydrogenaz i arylosulfatazy. Ureaza negatywnie reagowała na preparat Fuego 500 SC, Alister Grande 190 OD i Boreal 58 WG, natomiast aktywność β -glukozydazy zmniejszała się po aplikacji herbicydu Successor T 550 SE. Stymulujące działanie preparatu Aurora 40 WG i Successor T

550 SE odnotowano w przypadku ureazy, zaś Alister Grande 190 OD i Lumax 537,5 SE – w przypadku β -glukozydazy.

- 5) Testowane preparaty przyczyniły się do zmian we wzroście drobnoustrojów hodowanych na podłożach stałych (*Azotobacter* spp., *Arthrobacter* spp., *Bradyrhizobium* spp. (lupini), *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae, *Streptomyces longisporoflavus*, *Streptomyces intermedius*, *Streptomyces viridis*, *Streptomyces odorifer*, *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp.). Okazało się, że mikroorganizmy były najbardziej odporne na herbicyd Aurora 40 WG, a najbardziej wrażliwe na Alister Grande 190 OD.

Z kolei w doświadczeniu wazonowym wegetacyjnym wykazano, że:

- 1) Testowane herbicydy hamowały namnażanie się bakterii z rodzaju *Azotobacter*. Boreal 58 WG, Fuego 500 SC i Successor T 550 SE zmniejszały liczebność grzybów i bakterii organotroficzných. Bakterie oligotroficzne najintensywniej namnażały się w glebie z preparatem Successor T 550 SE, natomiast grzyby – z Aurora 40 WG;
- 2) Successor T 550 SE, Boreal 58 WG i Lumax 537,5 SE spowodowały obniżenie wielkości CD bakterii organotroficzných, zaś Successor T 550 SE, Lumax 537,5 SE i Fuego 500 SC zmniejszenie wartości indeksu CD promieniowców. Zaaplikowanie do gleby herbicydu Aurora 40 WG, Boreal 58 WG i Alister Grande 190 OD doprowadziło do zwiększenia wartości wskaźnika CD grzybów.
- 3) Aktywność dehydrogenaz, fosfatazy kwaśnej, fosfatazy alkalicznej, ureazy i β -glukozydazy była hamowana przez wszystkie testowane herbicydy. Katalaza i arylosulfataza wykazywały zróżnicowaną reakcję na działanie herbicydów. Stymulująco na te enzymy działał preparat Aurora 40 WG, natomiast inhibicyjnie – Fuego 500 SC, Boreal 58 WG i Successor T 550 SE;
- 4) Herbicydy zwiększyły wartości sumy zasadowych kationów wymiennych, a obniżyły kwasowość hydrolityczną gleby. Wysokie dawki herbicydów w niewielkim stopniu zmieniały wartości stopnia wysycenia gleby kationami zasadowymi oraz odczynu gleby;
- 5) Herbicydy Aurora 40 WG i Alister Grande 190 OD w ilościach zanieczyszczających obniżały plonowanie pszenicy jarej, Boreal 58 WG, Lumax 537,5 SE i Successor T 550 SE – kukurydzy oraz Fuego 500 SC – rzepaku jarego.

Podsumowując pierwszy obszar badawczy stwierdzono, że testowane fungicydy wprowadzone do gleby w zwiększonych dawkach są zagrożeniem dla zasiedlających ją

mikroorganizmów oraz zachodzących w niej procesów. Dlatego też należy stosować te preparaty rozważnie i zgodnie z zasadami dobrej praktyki rolniczej. Na podstawie przeprowadzonych badań można dokonać oceny ryzyka ekologicznego, poprzez oszacowanie wystąpienia negatywnych skutków ekologicznych w wyniku oddziaływania herbicydów. Przeprowadzenie kompleksowych analiz mikrobiologicznych, biochemicznych i fizykochemicznych gleby umożliwiło stwierdzenie, czy warunki jakie zaistniały w tym środowisku pod wpływem działania herbicydów są stabilne i czy gleba jest zdolna powrócić do prawidłowego stanu równowagi biologicznej.

Moje zainteresowania naukowe skupiły się również wokół zagadnienia dotyczącego *„Zmiany właściwości biologicznych gleby zanieczyszczonej cynkiem oraz możliwości przywracania jej równowagi”*. Ten problem badawczy został realizowany w ramach projektu badawczego finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz Narodowego Centrum Nauki (zał. 3: G.1.1), którego byłam wykonawcą.

Projekt badawczy pt. *„Możliwości przywracania równowagi mikrobiologicznej i biochemicznej gleby zanieczyszczonej cynkiem”* był realizowany w Katedrze Mikrobiologii, pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Kucharskiego. Podstawowym celem omawianego problemu badawczego było określenie w glebie zanieczyszczonej cynkiem jej mikrobiologicznych i biochemicznych właściwości, indeksu rozwoju kolonii (CD) oraz współczynnika ekofizjologicznej różnorodności drobnoustrojów (EP), przebiegu procesu nityfikacji oraz przydatności substancji organicznej (rozdrobnionej słomy, celulozy, przefermentowanej kory, trocin, kompostu i obornika) w łagodzeniu skutków negatywnego działania nadmiernych ilości cynku na metabolizm gleby. W celu szczegółowej oceny oddziaływania cynku na właściwości biologiczne gleby badania przeprowadzono zarówno w warunkach laboratoryjnych (zał. 3: A.4, A.5, B.1.11) jak i wazonowych wegetacyjnych (zał. 3: A.1, A.3, A.12, A.15). Wykazano, że cynk zarówno w badaniach laboratoryjnych jak i wazonowych wegetacyjnych hamował rozwój bakterii organotroficznych, bakterii oligotroficznych i ich form przetrwanych oraz promieniowców. W przypadku grzybów nastąpiła stymulacja ich namnażania pod wpływem cynku. Zanieczyszczenie gleby cynkiem zmieniło również wartości indeksu rozwoju kolonii (CD) oraz wskaźnika ekofizjologicznej różnorodności (EP) drobnoustrojów. Aktywność wszystkich analizowanych enzymów glebowych (dehydrogenaz, ureazy, fosfatazy kwaśnej, fosfatazy alkalicznej, katalazy, arylosulfatazy, β -glukozydazy) ulegała zmniejszeniu wraz z dawką cynku. Zbyt duże ilości cynku w glebie przyczyniły się również do zahamowania przebiegu procesu nityfikacji, co widoczne było w zmniejszeniu namnażania się bakterii nityfikacyjnych I i II fazy. Pod wpływem cynku zmieniały się

również właściwości fizykochemiczne gleby. Nastąpiło zmniejszenie wartości sumy zasadowych kationów wymiennych, przez co zwiększyły się wartości kwasowości hydrolitycznej gleby. Cynk wpływał niekorzystnie na wzrost roślin, przy czym gorczyca biała była bardziej wrażliwa niż owies. Odpowiednią równowagę gleby zachwianą działalnością cynku osiągnięto poprzez wprowadzanie do gleby substancji łagodzących negatywne skutki działania tego metalu ciężkiego na właściwości biologiczne gleby. Zastosowanie substancji organicznej częściowo zmniejszyło negatywne oddziaływanie nadmiaru cynku na właściwości biologiczne gleby. Wprowadzenie do gleby obornika, kompostu, słomy jęczmienia jarego i celulozy w większym stopniu zmniejszało negatywne oddziaływanie cynku na dehydrogenazy, ureazę, fosfatazę kwaśną i fosfatazę alkaliczną niż zastosowanie trocin i przefermentowanej kory. W przypadku pozostałych enzymów zależności te nie były tak jednoznaczne. Zależały one od rodzaju dodanej substancji organicznej oraz gatunku uprawianej rośliny. W przypadku owsa najbardziej skuteczne było nawożenie kompostem, trocinami, przefermentowaną korą i obornikiem, zaś a w przypadku gorczycy białej – dodatek kompostu.

Ze względu na zdobytą wiedzę oraz doświadczenie podczas realizacji projektu badawczego pt. „*Możliwości przywracania równowagi mikrobiologicznej i biochemicznej gleby zanieczyszczonej cynkiem*” pełnię funkcję promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim mgr inż. Rafała Strachela, który wykonuje pracę doktorską nt. „*Przywracanie homeostazy gleby zanieczyszczonej cynkiem*” w Katedrze Mikrobiologii, Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, UWM w Olsztynie (zał. 4: A.5). W ramach tych badań powstało 5 publikacji o zasięgu międzynarodowym (zał. 3: A.16, A.17, A.19, A.20, A.22). Wyniki również zaprezentowano na 2 konferencjach międzynarodowych (zał. 4: D.1.1.4, D.1.1.5).

W pracach (zał. 3: A.16, A.17, A.19, A.20, A.22) omówiono problem badawczy, dotyczący nie tylko określenia oddziaływania cynku na właściwości biologiczne gleby, ale również skutecznego przywracania homeostazy gleby zanieczyszczonej tym metalem ciężkim. Oceny stanu środowiska glebowego dokonano w oparciu o namnażanie się mikroorganizmów (bakterie organotroficzne, bakterie oligotroficzne, bakterie kopiotroficzne, promieniowce i grzyby), indeks rozwoju kolonii (CD) i wskaźnik ekofizjologicznej różnorodności (EP) drobnoustrojów, aktywność enzymów (dehydrogenaz, katalazy, ureazy, fosfatazy kwaśnej i β -glukozydazy) oraz plonowanie kukurydzy. W celu poprawy właściwości gleby poddanej presji cynku zastosowano mocznik, węglan wapnia, kompost oraz substancje sorbujące tj., alginat, biowęgiel, sepiolit, haloizyt kalcynowany czy sito

molekularne. Wykazano, że nawożenie gleby mocznikiem przyczyniło się do stabilizacji tego środowiska, co widoczne było we wzmożonym namnażaniu się mikroorganizmów oraz zwiększeniu aktywności oksydoreduktaz (zał. 3: A.16). Jednak mocznik nie był skuteczny w ograniczeniu negatywnego działania cynku na aktywność hydrolaz (zał. 3: A.17). Zbyt duża zawartość tego pierwiastka w glebie doprowadziła do pogorszenia właściwości mikrobiologicznych i biochemicznych. To niekorzystne działanie cynku na namnażanie się mikroorganizmów, ich różnorodność biologiczną oraz aktywność enzymatyczną zostało zneutralizowane poprzez wprowadzenie węgla wapnia (zał. 3: A.19). Stabilizację równowagi biologicznej gleby poddanej presji cynku osiągnięto poprzez dodatek kompostu. Kompost zastosowany ilości 10 i 20 g kg⁻¹ s.m. gleby spowodował stymulację namnażania się mikroorganizmów, zwiększył wartości wskaźnika CD i EP oraz aktywność enzymów glebowych (zał. 3: A.20). Prawidłowe funkcje gleby zanieczyszczonej cynkiem przywrócono również poprzez zastosowanie substancji sorbujących (zał. 3: A.22). Wykazano, że alginat, biowęgiel i sito molekularne w glebie zanieczyszczonej cynkiem stymulowało rozwój bakterii oligotroficznych, bakterii organotroficznych i promieniowców. Dodatek do gleby sita molekularnego zwiększył również aktywność wszystkich badanych enzymów, z wyjątkiem β -glukozydazy. Negatywny wpływ cynku na aktywność fosfatazy kwaśnej został zniwelowany po dodaniu do gleby alginatu, sepiolitu i haloizytu kalcynowanego. Z kolei aktywność dehydrogenaz zwiększyła się po wprowadzeniu alginatu, zaś katalazy – biowęgla. Testowane sorbenty zwiększyły plonowanie kukurydzy, jednocześnie zmniejszając zawartość pobranego cynku w roślinie.

Podsumowując zagadnienie pt. „*Zmiany właściwości biologicznych gleby zanieczyszczonej cynkiem oraz możliwości przywrócenia jej równowagi*” wykazano, że cynk w ilościach zanieczyszczających wpływa toksycznie na mikroorganizmy zasiedlające glebę, a także na procesy zachodzące w środowisku glebowym. Dlatego też, tereny narażone na działanie tego metalu ciężkiego powinny podlegać stałemu monitoringowi, przez co można zapobiegać zmianom jakie mogą zaistnieć w środowisku przyrodniczym pod wpływem cynku.

Podsumowanie obszarów badawczych niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego:

- 1) Namnażanie się mikroorganizmów, indeks rozwoju kolonii (CD) i wskaźnik ekofizjologicznej różnorodności (EP) mikroorganizmów, aktywność enzymów oraz

wzrost i rozwój roślin są odpowiednimi wskaźnikami diagnozującymi zmiany zachodzące pod wpływem herbicydów i cynku.

- 2) Najbardziej wrażliwym mikroorganizmem na działanie herbicydów okazał się *Azotobacter* spp.
- 3) Herbicydy wpływały hamująco na aktywność dehydrogenaz i arylosulfatazy, zaś stymulująco na aktywność katalazy, fosfatazy alkalicznej i fosfatazy kwaśnej.
- 4) Herbicydy w ilościach zanieczyszczających obniżały plonowanie pszenicy jarej (Aurora 40 WG i Alister Grande 190 OD), kukurydzy (Boreal 58 WG, Lumax 537,5 SE i Successor T 550 SE) oraz rzepaku jarego (Fuego 500 SC).
- 5) Cynk powoduje istotne zmiany w kształtowaniu się właściwości mikrobiologicznych i biochemicznych gleby oraz plonowaniu roślin.
- 6) Nawożenie gleby mocznikiem przyczyniło się do namnażania mikroorganizmów oraz zwiększenia aktywności oksydoreduktaz. Mocznik nie ograniczał negatywnego działania cynku na aktywność hydrolaz. Niekorzystne działanie cynku na namnażanie się mikroorganizmów, ich różnorodność biologiczną oraz aktywność enzymatyczną zostało zneutralizowane poprzez wprowadzenie węglanu wapnia.
- 7) Kompost stosowany w dawce 10 i 20 g kg⁻¹ s.m. gleby zneutralizował negatywne działanie cynku, poprzez zwiększenie liczebności i różnorodności mikroorganizmów oraz aktywności enzymów glebowych.
- 8) Zastosowanie alginitu, biowęgla i sita molekularnego w glebie poddanej działaniu cynku stymulowało rozwój bakterii oligotroficznych, bakterii organotroficznych i promieniowców. Dodatek do gleby sita molekularnego zwiększył aktywność wszystkich badanych enzymów, z wyjątkiem β -glukozydazy. Negatywny wpływ cynku na aktywność fosfatazy kwaśnej został zniwelowany po dodaniu do gleby alginitu, sepiolitu i haloizytu kalcynowanego. Aktywność dehydrogenaz zwiększyła się po wprowadzeniu alginitu, zaś katalazy – biowęgla. Testowane sorbenty przyczyniły się również do zwiększenia plonowania kukurydzy, jednocześnie zmniejszając zawartość pobranego cynku w roślinie.
- 9) Wprowadzenie do gleby obornika, kompostu, słomy jęczmienia jarego i celulozy w większym stopniu zmniejszało negatywne oddziaływanie cynku na dehydrogenazy, ureazę, fosfatazę kwaśną i fosfatazę alkaliczną niż zastosowanie trocin i przefermentowanej kory. W przypadku pozostałych enzymów zależności te nie były tak jednoznaczne. Zależały one od rodzaju dodanej substancji organicznej oraz gatunku uprawianej rośliny. W przypadku owsa najbardziej skuteczne było nawożenie

kompostem, trocinami, przefermentowaną korą i obornikiem, zaś a w przypadku gorczycy białej – dodatek kompostu.

W okresie po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk rolniczych realizowałam badania prowadzone w ramach 2 projektów badawczych (zał. 3: G.1.1, G.1.2) oraz 9 z działalności statutowej (zał. 3: G.2.2, G.2.3). Wynikiem tego było opublikowanie 26 prac w czasopismach JCR (zał. 3: B.1–B.4, A.1–A.22), w tym 4 składających się na cykl monotematycznych prac w postępowaniu habilitacyjnym (zał. 3: B.1–B.4). Ponadto opublikowałam 9 prac z listy B MNiSW (zał. 3: B.5, B.1.6, B.1.7, B.1.8, B.1.9, B.1.10, B.1.11, B.1.12, B.1.13), z czego 1 stanowi osiągnięcie naukowe (zał. 3: B.5) oraz 1 rozdział monografii naukowej (zał. 3: B.2.1).

Po uzyskaniu stopnia doktora mój dorobek został oszacowany na 634 pkt, z czego 124 pkt stanowi osiągnięcie habilitacyjne (zał. 3: B.1–B.5). Brałam czynny udział w 11 konferencjach naukowych krajowych (zał. 4: D.1.2.3–D.2.13) i 5 międzynarodowych (zał. 4: D.1.1.1–D.1.1.5), na których zaprezentowałam wyniki badań w formie 2 referatów (zał. 3: I.1.1, I.1.2) oraz 31 komunikatów naukowych, w tym 5 międzynarodowych (zał. 3: C.2.6–C.2.10) i 26 krajowych (zał. 3: C.2.11–C.2.31).

W celu doskonalenia swojego warsztatu naukowego odbyłam trzy staże. **Pierwszy staż zawodowy** zrealizowałam w 2009 r. w Okręgowej Stacji Chemiczno-Rolniczej w Olsztynie w Dziale Laboratoryjnym (zał. 4: C.1.1). **Kolejne dwa staże naukowe** odbyłam w 2017 r., w Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa w Laboratorium fitosanitarnym w Olsztynie (zał. 4: C.1.2) oraz w Instytucie Ochrony Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym w Białymstoku, Laboratorium Badania Pozostałości Pestycydów (zał. 4: C.1.3). Swoje kwalifikacje podnosiłam również poprzez udział w 4 kursach (zał. 4: C.2.1–C.2.4), 2 szkoleniach (zał. 4: C.2.5, C.2.6) oraz 2 seminariach naukowych (zał. 4: C.2.7, C.2.8).

Bardzo istotnym osiągnięciem mojej działalności naukowej było zrecenzowanie 46 artykułów naukowych (zał. 4: B.3) dla czasopism: Environmental Science and Pollution Research (19), Environmental Earth Sciences (10), European Journal of Soil Biology (4), Ecological Indicator (5), Science of the Total Environment (2), Brazilian Journal of Microbiology (1), Catena (2), Journal of Environmental Sciences (1), Energy, Ecology and Environmental (1), Plant and Soil (1).

W latach 2010–2013 uczestniczyłam w dwóch projektach badawczych finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz Narodowe Centrum Nauki, które były realizowane w Katedrze Mikrobiologii, Wydziału Kształtowania Środowiska i

Rolnictwa, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (zał. 3: G.1.1, G.1.2). Byłam kierownikiem 2 grantów uczelnianych pt. *”Rozwój młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich”*, w ramach których wykonano badania składają się na osiągnięcie habilitacyjne (zał. 3: G.2.3).

Od 2017 roku współpracuję z Instytutem Ochrony Roślin – Państwowym Instytutem Badawczym w Białymstoku, Laboratorium Badania Pozostałości Pestycydów (zał. 4: B.1.1). W 2017 roku odbyłam staż naukowy, dzięki któremu zapoznałam się z metodyką oznaczania pestycydów w glebie i materiale glebowym oraz wykrywania mykotoksyn w uprawach rolniczych i żywności. Wynikiem tej współpracy jest opublikowana praca składająca się na osiągnięcie habilitacyjne (zał. 3: B.5). Ponadto nawiązałam współpracę z jednostkami gospodarczymi takimi jak: Pracownia Urządzania Zieleni „Green Design” w Olsztynie (od 2017 r.), Gospodarstwo Rolne „Gosprol” Sp. z o.o. w Krzyżanowie (od 2018 r.) oraz Nadleśnictwo Stare Jabłonki (od 2018 r.). Współpraca z Pracownią Projektowania Zieleni „Green Designs” polega na udzieleniu konsultacji naukowych w zakresie drobnoustrojów promujących wzrost i rozwój roślin (zał. 4: B.1.2). Współpraca z Gospodarstwem Rolnym „Gosprol” Sp. z o.o. w Krzyżanowie dotyczy szacowania biochemicznej jakości gleb (zał. 4: B.1.3). Rozpoczęłam również współpracę z Nadleśnictwem Stare Jabłonki, która ma na celu ocenę właściwości mikrobiologicznych i biochemicznych gleb ekosystemów leśnych (zał. 4: B.1.4).

Na moje doświadczenie składa się również prowadzenie na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, UWM w Olsztynie zajęć dydaktycznych na kierunku (zał. 4: A.1.1): **Ochrona środowiska** (biologia ogólna, mikrobiologia, mikrobiologia środowiskowa, biochemia gleby), **Rolnictwo** (mikrobiologia, mikroorganizmy w technologiach rolniczych, chorobotwórczość drobnoustrojów, mikrobiologia środowiskowa), **Architektura krajobrazu** (drobnoustroje w architekturze krajobrazu), **Ogrodnictwo** (mikrobiologia), **Gospodarowanie surowcami mineralnymi i odnawialnymi** (biologia ogólna, bioremediacja, mikrobiologiczne przetwarzanie biomasy), **Leśnictwo** (mikrobiologia leśna). Na Wydziale Biologii i Biotechnologii, na kierunku **Mikrobiologia** prowadziłam ćwiczenia z przedmiotu mikrobiologia gleby (zał. 4: A.1.2), z kolei na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie prowadziłam ćwiczenia i wykłady z przedmiotu higiena gleby na studiach podyplomowych „Prewencja weterynaryjna i higiena pasz” (zał. 4: A.1.3). W swojej karierze zawodowej na kierunku **Ochrona środowiska**, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, UWM w Olsztynie prowadziłam wykłady z przedmiotu biologia ogólna (zał. 4: A.1.1).

Byłam promotorem **23 prac** inżynierskich (21 prac na kierunku Ochrona środowiska i 2 prace na kierunku Leśnictwo) (zał. 4: A.3, Tabela 1) oraz **19 prac** magisterskich (18 prac na kierunku Ochrona środowiska i 1 praca na kierunku Mikrobiologia) (zał. 4: A.4, Tabela 1).

Od 2012 do 2018 roku firmowałam kierunek Ochrona środowiska na studiach I stopnia, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, UWM w Olsztynie, w 2017/2018 roku kierunek Ogrodnictwo studia I stopnia, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, UWM w Olsztynie oraz w 2012/2013 i 2015/2016 Mikrobiologia, studia I stopnia, Wydział Biologii i Biotechnologii, UWM w Olsztynie (zał. 4: A.2).

Bardzo ważną aktywnością w obszarze organizacyjnym była w 2008 roku praca w zespole przygotowującym raport samooceny kierunku Ochrona środowiska, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, UWM w Olsztynie (zał. 4: E.2.3). W 2011 roku uczestniczyłam w przygotowywaniu Konferencji Naukowej organizowanej przez Katedrę Mikrobiologii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, UWM w Olsztynie (zał. 4: D.2).

Od 2016 roku jestem przedstawicielem adiunktów do Rady Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, UWM w Olsztynie (zał. 4: E.2.4).

Jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego (zał. 4: B.2.2) i Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów (zał. 4: B.2.3) oraz międzynarodowej Unii Towarzystw Gleboznawczych (International Union of Soil Science) (zał. 4: B.2.1).

W 2017 roku powierzono mi opiekę nad studentami kierunku Rolnictwo (studia I stopnia) na studiach stacjonarnych i niestacjonarnych (zał. 4: E.2.5).

Uczestniczyłam w XIV, XV i XVI Olsztyńskich Dniach Nauki i Sztuki (zał. 4: E.1.1, E.1.2, E.1.4), które odbyły się w latach 2016–2018. W 2017 roku brałam aktywny udział w Europejskiej Nocy Naukowców (zał. 4: E.1.3).

E. Wskaźniki naukometryczne

Wynikiem moich dotychczasowych badań jest **41 publikacji** (zał. 3: B.1–B.5, A.1–A.22, B.1.1–B.1.13, B.2.1), w tym **26 prac** opublikowanych w czasopismach znajdujących na liście Journal Citation Reports (JCR) (zał. 3: B.1–B.4, A.1–A.22), **14** znajduje się na liście **B wg MNiSW** (zał. 3: B.5, B.1.1–B.1.13) oraz **1 rozdział** w monografii naukowej (zał. 3: B.2.1). Na mój dorobek naukowy składa się również **26 komunikatów krajowych** (zał. 3: C.2.1–C.2.5, C.2.11–C.2.31) i **5 komunikatów międzynarodowych** (zał. 3: C.2.6–C.2.10).

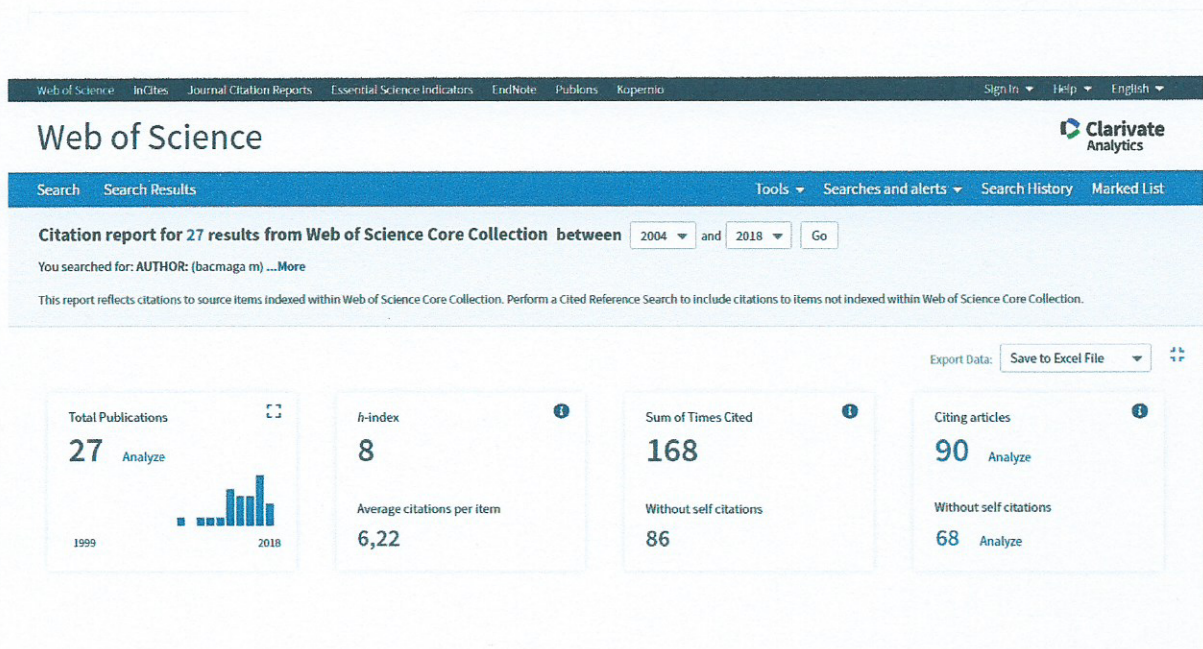
Sumaryczny Impact Factor opublikowanych prac (zgodnie z rokiem wydania) według bazy Web of Science Core Collection wynosi **34,255** (zał. 2: Tabela 1; zał. 3: D, J.1-J.2), zaś liczba punktów według Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (zgodnie z rokiem wydania) – **634** (zał. 2: Tabela 1; zał. 3: J.1-J.2). W bazie Web of Science wskaźnik Hirscha wynosi **8**, a łączna liczba cytowań **168** (bez autocytowań 86) (zał. 2: Tabela 2).

Poświadczeniem mojej działalności naukowej jest otrzymanie po uzyskaniu stopnia doktora **2** nagród Rektora Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego za działalność naukową (zał. 3: H.3, H.4) oraz wyróżnienia za rozprawę doktorską (zał. 3: H.2). W obszarze działalności naukowej **2** krotnie otrzymałam podwyżkę jakościową od Rektora UWM w Olsztynie w latach 2014–2016 i 2017–2018 (zał. 3: H.5, H.6).

Szczegółowe osiągnięcia naukowe, dydaktyczne i organizacyjne zostały przedstawione w Załączniku nr 3 i 4.

Tabela 1. Syntetyczne zestawienie dorobku naukowego

Wyszczególnienie dorobku naukowego	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem
Publikacje w czasopismach Journal Citation Report (JCR) – kat. A, w tym:	-	26	26
- publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe	-	4	4
- pozostałe publikacje	-	22	22
Oryginalne prace twórcze opublikowane w czasopismach spoza listy JCR – kat. B	5	9	14
- publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe	-	1	1
- pozostałe publikacje	5	8	13
Rozdziały w monografiach w j. polskim	-	1	1
Sumaryczny IF	-	34,255	34,255
- publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe	-	7,340	7,340
- pozostałe publikacje		26,903	26,903
Punkty MNiSW za publikacje, zgodnie z rokiem wydania	15	619	634
- publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe	-	124	124
- pozostałe publikacje	15	495	510
Projekty badawcze finansowane z MNiSW/NCN	-	2	2
Projekty/zadania badawcze finansowane z działalności statutowej	1/3	2/9	3/12
Raporty i sprawozdania	3	11	14
Komunikaty w materiałach konferencyjnych międzynarodowych	-	5	5
Komunikaty w materiałach konferencyjnych krajowych	5	21	26
Referaty	-	2	2
Postery	5	25	30
e-postery	-	2	2
Recenzje publikacji	-	46	46
Staże	-	3	3
Kursy, szkolenia i seminaria	-	8	8

Tabela 2. Liczba cytowań w bazie Web of Science Core Collection/Cited Reference Search w dniu 14.11.2018 r.:

Małgorzata Baćmaga