

Rada Dyscypliny Nauki Biologiczne
Wydział Biologii Środowiskowej
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Akademicka 13
20-950 Lublin
za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Magdalena Toporowska
Zakład Hydrobotaniki
Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin

Wniosek

z dnia 9 kwietnia 2025 r.

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie¹ nauk biologicznych.

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia
doktora habilitowanego – cykl artykułów naukowych powiązanych tematem:

Wpływ metabolitów sinicowych na funkcjonowanie wybranych grup hydrobiontów: toksyczność, interakcje, biodegradacja

Wniosuję – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie
wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała
uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu ~~tajnym~~/jawnym*²

Zostałem poinformowany, że:

*Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w
sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej
z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).*

*Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl, tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu.
Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c)
Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art.
232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu
przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i
obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.*

*Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest
na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html*

.....
(podpis wnioskodawcy)

Załączniki: 1. Dane wnioskodawcy 2. Kopia dyplomu doktorskiego 3. Autoreferat 4. Wykaz
osiągnięć naukowych 5. Oświadczenia współautorów 6. Artykuły wchodzące w skład
osiągnięcia habilitacyjnego

¹ Klasyfikacja dziedzin i dyscyplin wg. rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września
2018 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin w zakresie sztuki (Dz. U. z 2018 r. poz.
1818).

² * Niepotrzebne skreślić.

Załącznik nr 3

AUTOREFERAT

Dr inż. Magdalena Toporowska

Zakład Hydrobotaniki

Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

ul. Dobrzańskiego 37

20-262 Lublin

Spis treści

1. Imię i nazwisko.....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej	3
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)	4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	4
4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego	4
4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników	6
4.3.1. Wprowadzenie	7
4.3.2. Cel badań	12
4.3.3. Osiągnięte wyniki	14
4.3.4. Podsumowanie najważniejszych wyników badań opublikowanych w artykułach stanowiących osiągnięcie naukowe	26
4.3.5. Literatura.....	28
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.....	33
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę	49
7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej	53

1. IMIĘ I NAZWISKO: Magdalena Toporowska

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE LUB ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.

- **2005 r. – tytuł magistra inżyniera ochrony środowiska**, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Akademia Rolnicza w Lublinie; praca magisterska pt. „Fitoplankton hipertroficznego Jeziora Syczyńskiego na Wyżynie Lubelskiej” wykonana w Katedrze Ekologii Ogólnej Wydziału Ogrodniczego Akademii Rolniczej w Lublinie; promotor: dr Danuta Krupa
- **2011 r. – stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii**, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II; rozprawa doktorska pt. „Struktura fitoplanktonu oraz wpływ jego toksycznych gatunków na wybrane zoohydrobionty w hipertroficznym Jeziorze Syczyńskim” wykonana w Katedrze Hydrobiologii Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie; promotor: prof. dr hab. Barbara Pawlik-Skowrońska; recenzenci: prof. dr hab. Władysława Wojciechowska oraz prof. dr hab. Ryszard Gołdyn (Rozprawa wyróżniona przez Recenzentów)

3. INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH LUB ARTYSTYCZNYCH

- 1 października 2009 – 31 grudnia 2012: starszy technik, Katedra Hydrobiologii, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
- 1 stycznia 2013 – 31 października 2020: specjalista inżynierijno-techniczny, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie (w okresie od 01.11 2019 do 30.09.2020 niepełny wymiar czasu pracy – ½ etatu)
- 1 października 2016 – 31 marca 2020: wykładowca, Wyższa Szkoła Społeczno-Przyrodnicza im. Wincentego Pola w Lublinie (umowy o przeniesienie praw autorskich i umowy zlecenie)
- 1 listopada 2019 do 30 września 2020: adiunkt w grupie pracowników dydaktycznych w niepełnym wymiarze czasu pracy – ½ etatu, Katedra Hydrobiologii i Ochrony

Ekosystemów, Zakład Hydrobotaniki, Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

- 1 listopada 2020 – do chwili obecnej: adiunkt w grupie pracowników badawczo-dydaktycznych, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, Zakład Hydrobotaniki, Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

4. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:

Osiągnięciem, stanowiącym podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, jest cykl czterech oryginalnych prac badawczych opublikowanych w latach 2018-2024, ujętych pod wspólnym tytułem:

**Wpływ metabolitów sinicowych na funkcjonowanie wybranych grup hydrobiontów:
toksyczność, interakcje, biodegradacja**

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

[Publ. 1] Pawlik-Skowrońska B., Toporowska M., Mazur-Marzec H. 2018. Toxic oligopeptides in the cyanobacterium *Planktothrix agardhii*-dominated blooms and their effects on duckweed (Lemnaceae) development. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, 419, 41. <https://doi.org/10.1051/kmae/2018026>. [*MNiSW=20; *IF₂₀₁₈=1,265; **IF_w momencie opublikowania=1,525; ***liczba cytowań: Scopus=11; WoS=11]

Praca powstała w oparciu o wyniki badań uzyskane przez wszystkich autorów. Jestem wykonawcą 60% prac przeprowadzonych w ramach eksperymentów ekotoksykologicznych, autorką wszystkich rycin i analiz statystycznych, współautorką tekstu pracy oraz zmian w procesie publikacyjnym. Mój udział szacuję na 50%.

[Publ. 2] Toporowska M., Mazur-Marzec H., Pawlik-Skowrońska B. 2020. The effects of cyanobacterial bloom extracts on the biomass, Chl-a, MC and other oligopeptides contents in a natural *Planktothrix agardhii* population. International Journal of Environmental Research and Public Health, 17(8), 2881; <https://doi.org/10.3390/ijerph17082881> [*MNiSW=140; *IF₂₀₂₀=3,390; **IF_w momencie opublikowania = 2,849; ***liczba cytowań: Scopus=17; WoS=18]

Jestem autorką koncepcji pracy. Wszystkie wyniki badań z wyjątkiem wyników analiz oligopeptydów techniką LC-MS/MS były uzyskane przeze mnie. Przeprowadziłam prace terenowe obejmujące pobieranie prób do eksperymentów, laboratoryjne eksperymenty ekotoksykologiczne, analizy HPLC-PDA mikrocystyn, analizy mikroskopowe fitoplanktonu, analizy chlorofilu-a. Jestem główną autorką tekstu pracy, wszystkich analiz statystycznych, jak również wszystkich rycin. Mój udział szacuję na 85%.

[Publ. 3] Toporowska M. 2022. Degradation of three microcystin variants in the presence of the macrophyte *Spirodela polyrhiza* and the associated microbial communities. International Journal of Environmental Research and Public Health, 19, 6086. <https://doi.org/10.3390/ijerph19106086> [*MNiSW=140; *IF₂₀₂₂=0,000; **IF_w momencie opublikowania= 4,614; ***liczba cytowań: Scopus=7; WoS=6]

Jestem autorką koncepcji pracy. Przeprowadziłam eksperymenty laboratoryjne i uzyskałam wszystkie wyniki badań. Jestem autorką wszystkich rycin, tabel i całości tekstu. Mój udział wynosi 100%.

[Publ. 4] Toporowska M., Żebracki K., Mazur A., Mazur-Marzec H., Šulčius S., Alzbutas G., Lukashevich V., Dziga D., Mieczan T. 2024. Biodegradation of microcystins by microbiota of duckweed *Spirodela polyrhiza*. Chemosphere, 366, 143436. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143436> [*MNiSW=140; *IF₂₀₂₄=0,000; **IF_w momencie opublikowania=8,100; ***liczba cytowań: Scopus=0; WoS=0]

*Jestem autorką koncepcji pracy. Przeprowadziłam eksperymenty laboratoryjne, analizy HPLC mikrocystyn i produktów ich degradacji, analizy mikroskopowe mikrobioty *S. polyrhiza* oraz dokonałam pobrania prób do badań genetycznych i analiz LC-MS/MS. Brałam udział w przygotowaniu prób do sekwencjonowania metagenomowego. Jestem główną autorką tekstu pracy (abstraktu, wstępu, podrozdziałów dotyczących metod badań i wyników nr 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.8, 2.10, 3.1 oraz dyskusji i konkluzji), części analiz statystycznych, rycin nr 1, 3, 4, S3, tabel nr 1, 2 S4, współautorką podrozdziału 3.3 oraz ryciny nr 5. Mój udział szacuję na 55%.*

Łącznie dla ww. cyklu publikacji: sumaryczna ilość punktów MNiSW wynosi 440, wartość wskaźnika IF dla roku opublikowania: 4,655, wartość wskaźnika IF w momencie opublikowania: 17,088. Liczba cytowań: wg Web of Science=34, wg Scopus =37. Mój średni udział procentowy wynosi 72,5%.

W trzech publikacjach, które wchodziły w skład osiągnięcia naukowego, byłam **autorką koncepcji badań oraz autorem korespondencyjnym**, a we wszystkich publikacjach **głównym wykonawcą badań eksperymentalnych i laboratoryjnych**, w **jednej pracy autorką zaś w pozostałych główną autorką tekstów prac, tabel rycin i analiz statystycznych**. Oświadczenia współautorów prac, szczegółowo określające ich indywidualny wkład w powstanie omawianych publikacji zamieszczone są w **załączniku nr 5**.

Wymienione powyżej prace (cykl 4 publikacji naukowych) wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, cytowane są poniżej zgodnie z nadaną im numeracją **1-4**.

* dla roku opublikowania;

** IF w momencie opublikowania;

*** liczba cytowań na dzień 28.02.2025

4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników

Osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego stanowi cykl prac opublikowanych w latach 2018-2024 pod wspólnym tytułem: **„Wpływ metabolitów sinicowych na funkcjonowanie wybranych grup hydrobiontów: toksyczność, interakcje, biodegradacja”**. Celem badań, których wyniki stanowią omawiane osiągnięcie naukowe, było zbadanie wpływu różnych mieszanin metabolitów (w tym metabolitów wtórnych z grupy oligopeptydów) produkowanych przez zespoły sinic zdominowane przez *Planktothrix agardhii* na biomasę, zawartość chlorofilu-a oraz oligopeptydów w biomase tego gatunku sinic, oraz rozwój rośliny naczyniowej spirodela wielokorzeniowa (*Spirodela polyrhiza*) w odniesieniu do oddziaływania czystej MC-LR. Badano również strukturę mikrobioty *S. polyrhiza* po ekspozycji na czyste mikrocystyny MC-RR, MC-LR i MC-LF oraz biodegradację mikrocystyn w obecności *S. polyrhiza* i jej mikrobioty jak i mikrobioty makrofity bez rośliny gospodarza.

Wythuszczonym drukiem zaznaczono najważniejsze osiągnięcia zawarte w cyklu publikacji.

4.3.1. Wprowadzenie

Sinice (cyjanobakterie, Cyanobacteria, Cyanoprokaryota) to prokariotyczne organizmy zaliczane do bakterii, obejmujące 374 opisane rodzaje, spośród których istnienie ponad 230 rodzajów zostało potwierdzone metodami molekularnymi (Hentschke i Junior 2022). Współczesna systematyka wyróżnia pięć rzędów sinic: Chroococcales, Nostocales, Oscillatoriales, Synechococcales i Stigonematales. Nasilająca się eutrofizacja wód oraz czynniki związane ze zmianami klimatu (w tym wydłużony sezon wegetacyjny i podwyższone temperatury wód) są głównymi przyczynami występowania masowego rozwoju sinic i tzw. zakwitów wód (Paerl and Huisman 2008, Mantzouki i in. 2018). Zakwit wody to zjawisko masowego namnażania się planktonowych mikroorganizmów (sinic lub glonów), prowadzące do zauważalnej zmiany barwy, przeźroczystości oraz innych właściwości fizykochemicznych wody (Oliver i Ganf 2000). Mimo, że zakwity w słodkowodnych zbiornikach są tworzone zaledwie przez kilkanaście rodzajów i ponad 30, głównie planktonowych, gatunków sinic, stanowią one intensywnie badany, globalny problem (Codd i in. 1999, Mantzouki i in. 2018, Svirčev i in. 2019, Chorus i Welker 2021, Ferencz i in. 2023, i Quer i in. 2024). Najpowszechniejsze gatunki sinic tworzące zakwity wód należą do rodzajów *Microcystis* (Chroococcales), *Aphanizomenon*, *Cuspidothrix*, *Dolichospermum*, *Raphidiopsis* (Nostocales) i *Planktothrix* (Oscillatoriales) reprezentowany m.in. przez *Planktothrix agardhii* (Chorus i Welker 2021). Obecność w wodach toksyn (cyjanotoksyn) i innych metabolitów wtórnych sinic stanowi zagrożenie dla ekosystemów wodnych, zdrowia ludzi i zwierząt. Zakwity wód wywołane przez toksynotwórcze gatunki prowadzą często do degradacji ekosystemów wodnych, spadku jakości bądź zaniku możliwości korzystania z ich usług ekosystemowych oraz wyłączenia zbiorników wody pitnej z użytkowania, pogłębiając w wielu regionach kryzys wodny (Qin i in. 2010, Humpage i Cunliffe 2021).

P. agardhii to jeden z pospolitych, potencjalnie toksycznych gatunków sinic zdolny do tworzenia długotrwałych (wielomiesięcznych) zakwitów w płytkich, eutroficznych wodach śródlądowych w strefie klimatu umiarkowanego (Kurmayer i in. 2011, 2016, Toporowska i in. 2016, Mantzouki i in. 2018, Wagner i in. 2024). Sinice te preferują wysokie stężenia związków biogennych, szczególnie azotu amonowego, podwyższoną mętność i mieszanie wody oraz tolerują szeroki zakres temperatur (Reynold i in. 2002, Pawlik-Skowrońska i in. 2004, Toporowska i in. 2018). Przewiduje się, że globalny wzrost temperatury i postępująca eutrofizacja wód mogą spowodować nasilenie zjawiska zakwitów wód wywołanych przez *P. agardhii* w nadchodzących dekadach (Mantzouki i in. 2018).

Sinice mogą produkować szerokie spektrum metabolitów wtórnych w tym cyjanotoksyn takich jak hepatotoksyczne mikrocystyny (MC) i nodularyny (NOD), neurotoksyczne anatoksyny (ANTX) czy saksitoksyny (STX), jak i wiele innych bioaktywnych substancji, w tym oligopeptydy inne niż mikrocystyny (np. aeruginozyny, mikrogininy, anabaenopeptyny, cyjanopeptoliny; Sivonen and Borner 2008, Grabowska i in. 2014, Zervou i in. 2021). W ostatnich kilkunastu latach coraz większą uwagę badaczy przykuwa rola i bioaktywność metabolitów wytwarzanych przez *P. agardhii* (Rohrlack i in. 2009, 2013, Grabowska i in., 2014, Kurmayer i in. 2011, 2016, Pawlik-Skowrońska i in. 2019). Gatunek ten produkuje głównie demetylowane pochodne mikrocystyny-RR takie jak [D-Asp³]MC-RR czy [D-Asp³, Dhb⁷]MC-RR, jak również demetylowane pochodne MC-LR (np. [D-Asp³]MC-LR) i MC-HtyR ([D-Asp³]MC-HtyR) (Kosol i in. 2009, Grabowska i in. 2014). *P. agardhii* może wytwarzać szereg innych nierybosomalnych oligopeptydów (NRP), takich jak aeruginozyny (AER), anabaenopeptyny (AP), cyjanopeptoliny (CPL) i mikrogininy (MRG), a także mikrowirydyny rybosomalne (MIC) (Welker i von Döhren 2006, Kurmayer i in. 2011, Entffelner i in. 2023). Produkcja mikrocystyn i innych oligopeptydów zależy od wielu, nie w pełni poznanych czynników środowiskowych. Dlatego nie da się przewidzieć rozwoju poszczególnych toksycznych (produkujących mikrocystyny) i nietoksycznych (nieprodukujących mikrocystyn) subpopulacji w obrębie danej populacji sinic (Briand i in. 2005, Rohrlack i in. 2009, 2013, Kurmayer i in. 2011, 2016). Dodatkowo wśród populacji *P. agardhii* występują zarówno szczepy wytwarzające, jak i niewytwarzające inne rodzaje oligopeptydów, a zmienność genotypowa dotyczy genów kodujących zarówno wytwarzanie mikrocystyn jak i innych biologicznie aktywnych oligopeptydów (Rohrlack i in. 2008, Kurmayer i in. 2016, Entffelner i in. 2023). Dlatego populacje *P. agardhii* nie są klonalne i mogą składać się z kilku chemotypów, charakteryzujących się różnymi wzorami peptydowymi (Grabowska i in. 2014). Profil peptydowy w chemotypie jest w zasadzie stały, jednakże wykazano, że warunki środowiskowe mogą nieznacznie zmieniać produkcję określonych peptydów (Agha i Quesada 2014).

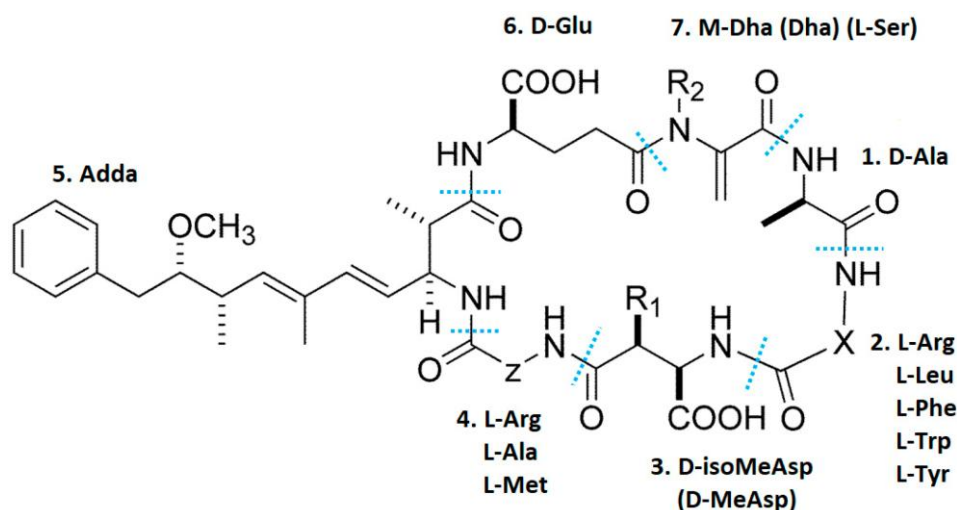
Z roku na rok rośnie liczba nowo odkrywanych metabolitów wtórnych sinic, w tym związków produkowanych przez *P. agardhii*. Na przykład w 2008 roku znano 80 wariantów mikrocystyn (Sivonen i Borner 2008), w 2017 roku 246 (Meroulito i in. 2017), zaś w 2021 roku 310 wariantów (Jones i in. 2021). W naturalnym środowisku pozakomórkowe mikrocystyny mogą osiągać wysokie stężenia: nawet od 712 do 1800 mg/L (Jones i Orr 1994, Nasri i in. 2004). W wielu pracach wykazano toksyczność czystych cyjanotoksyn, zwłaszcza mikrocystyn

względem niektórych glonów i roślin wyższych, bezkręgowców, w tym przedstawicieli zooplanktonu, jak i kręgowców, w tym ssaków oraz człowieka (Codd i in. 1999, Martins i Vasconcelos, 2009, Máthé i in. 2013, Toporowska i in. 2014, Pham i Utsumi 2018, Pawlik-Skowrońska i in. 2019, Svircev i in. 2019, Toporowska i in. 2020). Wśród oligopeptydów sinicowych znajduje się wiele inhibitorów enzymów (Welker i von Döhren 2006, Mazur-Marzec i in. 2015, Pawlik-Skowrońska i in. 2023). Toksyczne działanie niektórych czystych cyjanotoksyn, w tym MC-LR i MC-RR, w stosunku do roślin wyższych w tym makrofity (Weiss i in. 2000, Pflugmacher 2004, Máthé i in. 2013) objawia się m.in. zmianami struktury komórkowej oraz procesów fizjologicznych i biochemicznych (np. wywoływanie stresu oksydacyjnego, hamowanie fotosyntezy), hamowaniem wzrostu i rozwoju roślin. Nadal niewiele wiadomo na temat wpływu naturalnych mieszanin metabolitów sinic zawierających różne oligopeptydy na makrofity, a badania wpływu ekstraktów sinicowych skupiały się na analizowaniu oddziaływania mieszanin metabolitów *Microcystis* i roli mikrocystyn obecnych w ekstraktach, pomijając potencjalny wpływ innych oligopeptydów i biologicznie aktywnych związków (Romanowska-Duda i in. 2002, Saqrane i in. 2007, Máthé i in. 2013 oraz prace cytowane). Według bazy CyanoMetDB (Jones i in. 2021) peptydy sinicowe stanowią 65% metabolitów sinic, które ogółem obejmują szeroki zakres mas cząsteczkowych: od 100 do 2500 Da. 57% metabolitów sinic to związki cykliczne. Oprócz mikrocystyn, zidentyfikowano strukturalnie co najmniej 500 innych oligopeptydów o masie cząsteczkowej od 400 do 1900 Da (Janssen 2019). Dodatkowym aspektem jest pomijanie wpływu związków produkowanych przez sinice na mikrobiotę hydrofitów, która, jak wykazały najnowsze badania (Zhu i in. 2021, Inoue i in. 2022) może być zróżnicowana i mieć znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania zarówno makrofity jak i ekosystemów wodnych.

Pomimo licznych badań dotyczących oligopeptydów sinicowych (Welker i von Döhren 2006, Rohrlack i in. 2009, Agha i Quesada 2014, Grabowska i in. 2014, Scherer i in. 2017, Pawlik-Skowrońska i in. 2019, Bubik i in. 2024), biologiczna rola i znaczenie tych metabolitów wtórnych sinic, w tym produkowanych przez *P. agardhii*, przy dość szeroko rozpoznanej aktywności biologicznej niektórych z tych związków względem organizmów żywych (m.in. toksyczność, allelopatia), wciąż jest słabo poznana i wymaga szczegółowych badań (Kurmayer i in. 2016, Hu i Rzymiski 2019, Wei i in. 2024). Na przykład Kurmayer i in. (2016) wskazali, że wysoka częstotliwość występowania kilku genów syntezy toksyn i bioaktywnych peptydów obserwowana u tworzących zakwity gatunków *P. agardhii* i *P. rubescens* (ale nie u innych gatunków z rodzaju *Planktothrix*, niepowodujących zakwitów wód) sugeruje potencjalne

funkcjonalne powiązanie między produkcją peptydów a potencjałem kolonizacji i dominacją w siedliskach (rola „quorum sensing”). Autorzy sugerują, że poprzez produkcję toksyn i bioaktywnych oligopeptydów *Planktothrix* funkcjonuje jako konstruktor niszy w skali ekosystemu. Może to skutkować jeszcze większą zdolnością do monopolizowania zasobów, dodatkimi pętlami sprzężenia zwrotnego i odpornością w stabilnych warunkach środowiskowych. Ponadto Hu i Rzymiski (2019) wykazali auto-ochronną rolę mikrocystyn względem kolonii *Microcystis*.

Niezwykle istotne jest także poszerzanie wiedzy na temat toksyczności, trwałości oraz biodegradacji oligopeptydów, w tym powszechnie produkowanych przez sinice mikrocystyn. O trwałości, aktywności biologicznej i toksyczności mikrocystyn decyduje budowa ich cząsteczki, którą stanowi siedem aminokwasów ułożonych w pierścieniu (Botes i in. 1995). Ogólny wzór mikrocystyn przedstawia się następująco: cyklo-(D-Ala¹-X²-D-MeAsp³-Z⁴-Adda⁵-D-Glu⁶-Mdha⁷), wzór strukturalny przedstawiono na rycinie 1. W skład cząsteczki mikrocystyny wchodzi dwa rzadkie aminokwasy niebiałkowe tj. N-metylodehydroalanina (M-Dha⁷) i charakterystyczny wyłącznie dla sinic kwas Adda⁵ (3-amino-9-metoksy-2,6,8-trimetylo-10-fenylodeka-4,6-dienowy), trzy aminokwasy w konfiguracji D (odwrotnej niż w aminokwasach białkowych): D-alanina (D-Ala¹), kwas D-metyloasparaginowy (MeAsp³) i kwas D-glutaminowy (D-Glu⁶) oraz dwa zmienne (X² i Z⁴) aminokwasy białkowe (o konfiguracji L) – najczęściej L-arginina (Botes i in. 1995). Nazewnictwo wariantów mikrocystyn wywodzi się ze zmiennych pozycji zajmowanych przez te L-aminokwasy (np. leucyna L i arginina R w MC-LR). Reszty aminokwasowe w pozycji 3 (MeAsp) i/lub 7 (M-Dha) są często pozbawione grup metylowych. Na toksyczność mikrocystyn wpływają: omówiona cykliczna, bardzo trwała struktura cząsteczki umożliwiające odpowiednie rozmieszczenie kluczowych reszt aminokwasowych, takich jak Adda, Masp/Glu i Mdha, co jest niezbędne do skutecznej inhibicji enzymów; obecność kwasu Adda i D-glutaminianu, które odgrywają kluczową rolę w sposobie działania, wiązania mikrocystyn i hamowaniu fosfataz białkowych (PP1 i PP2A) w komórkach ssaków, stopień hydrofobowości/lipofilności – mikrocystyny mniej hydrofobowe są bardziej toksyczne (Nishiwaki-Matsushima i in. 1991, Sivonen i Jones 1999, Ward i Codd 1999, Vesterkvist i in. 2012). Ponadto wszelkie modyfikacje struktury, takie jak zastąpienie aminokwasów innymi resztami, substytucja poprzez metylację, halogenowanie lub utlenianie oraz zmiany konfiguracji, mogą znacząco wpłynąć na bioaktywność mikrocystyn (Fontanillo i in. 2018, Bouaïcha i in. 2019).



Ryc. 1. Ogólny wzór strukturalny mikrocytyn (za Massey i Yang 2020)

Proces degradacji mikrocytyn stanowi drogę do obniżenia ich toksyczności oraz eliminacji tych związków z naturalnego środowiska. Wyróżnia się dwa typy procesów transformacji mikrocytyn (i Quer i in. 2024): abiotyczną (fotodegradację, hydrolizę) i biotyczną. Degradacja biotyczna obejmuje rozkład prowadzony przez bakterie, który jest najczęściej badanym i najlepiej poznanym mechanizmem usuwania mikrocytyn w środowisku naturalnym, a także rzadko badane szlaki rozkładu z udziałem grzybów i roślin (Jones i in. 1994). Wiele bakterii zdolnych do rozkładu mikrocytyn należy do typu Proteobacteria. Szczepy bakteryjne zdolne do degradacji mikrocytyn były izolowane z wielu różnych ekosystemów wodnych, głównie zaś z wody i osadów jeziornych (Manage i in. 2009, Alamri 2012, Mou i in. 2013, Benegas i in. 2021). Brakuje natomiast badań na temat biodegradacji mikrocytyn przez bakterie tworzące mikrobiotę roślin wodnych. Bakterie rozkładające mikrocytyny wykorzystują je jako dodatkowe źródło związków organicznych (Alamri 2012) i posiadają zwykle klaster genów odpowiedzialny za transkrypcję enzymów rozkładających mikrocytyny (Bourne i in. 1996). Klaster *mlrA,B,C,D* koduje trzy enzymy hydrolityczne (mikrocytynazę MlrA, peptydazę serynową MlrB, metalopeptydazę MlrC) i białko transportujące liniową formę z przestrzeni paraplazmatycznej do wnętrza komórki bakterii (transporter oligopeptydów, Bourne i in. 1996). Dotychczas odkryto 22 produkty degradacji mikrocytyn, w tym 13 typowych dla MC-LR, 1 dla MC-RR i 3 dla MC-LF, przy czym większość z nich została wykazana tylko w jednej publikacji (i Qer i in. 2024).

Główny poznany mechanizm biodegradacji mikrocystyn polega na zerwaniu wiązania pomiędzy Adda i Arg, co stwierdzili po raz pierwszy Bourne i in. (1996) w badaniu na mikrocystynie-LR. Yang i in. (2014) wykazali podobne ścieżki rozkładu MC-LR ([995.5590 [M+H]⁺]) jak i MC-RR ([1038.5709 [M+H]⁺]). Hydroliza wiązania Adda-Arg powodowana przez MlrA prowadzi do linearyzacji cząsteczki, która jest następnie przekształcana (hydroliza wiązania Ala-Arg lub Ala-Leu) przez MlrB w tetrapeptyd. MlrC odpowiada za degradację tetrapeptydu (przecięcie wiązania między kwasami Adda i Glu). MlrB i MlrC mogą działać równolegle wobec różnych wiązań peptydowych w liniowych formach mikrocystyn (Dziga i in. 2012). Co ciekawe, Edwards i in. (2008) badali degradację MC-LF przez różne konsorcja mikrobiologiczne z naturalnych jezior i zidentyfikowali różne produkty pośrednie powstałe w procesie obejmującym demetylację, hydrolizę, dekarboksylację i kondensację związków macierzystych. Produkty te różniły się od produktów powstających podczas standardowej ścieżki degradacji mikrocystyn.

Powyższe przesłanki wskazujące na brak wiedzy na temat wpływu mieszanin metabolitów *P. agardhii*, w tym oligopeptydów innych niż mikrocystyny, na kształtowanie biomasy gatunku, zawartość chlorofilu-a i oligopeptydów w biomasie *P. agardhii* oraz na rozwój makrofitu *S. polyrhiza*, jak i brak wiedzy na temat roli makrofity oraz ich mikrobioty w procesie biodegradacji mikrocystyn i wpływu tych toksyn na strukturę mikrobioty zainspirowały mnie do podjęcia omówionych poniżej badań.

4.3.2. Cel badań

Podjęte przeze mnie badania miały na celu określenie wpływu naturalnych mieszanin metabolitów (w tym oligopeptydów) produkowanych przez zespoły sinic zdominowane przez *Planktothrix agardhii* na biomasę tego gatunku oraz zawartość w niej chlorofilu-a i oligopeptydów. Ponadto analizowano oddziaływanie mieszanin metabolitów oraz czystej mikrocystyny-LR na rozwój makrofitu spirodela wielokorzeniowa (*Spirodela polyrhiza*). W dalszej części badań oceniono wpływ trzech wariantów mikrocystyn – MC-RR, MC-LR i MC-LF, które są powszechnie produkowane przez sinice tworzące zakwity wód – na strukturę i skład mikrobioty *S. polyrhiza*. Przeanalizowano również proces biodegradacji wymienionych toksyn po ich ekspozycji na makrofity i ich mikrobiotę, jak i mikrobiotę *S. polyrhiza* bez rośliny gospodarza.

W związku z powyższym sformułowałam następujące hipotezy badawcze:

H1. Biomasa *P. agardhii* oraz zawartość chlorofilu-a i oligopeptydów w biomasie sinicy są kształtowane odmiennie przez różnorodne mieszaniny metabolitów różnych zespołów cyjanobakterii zdominowanych przez ten gatunek, co może wpływać na sukcesję poszczególnych jego szczepów/chemotypów.

Hipoteza została pośrednio zweryfikowana poprzez odpowiedź na następujące pytania badawcze:

P1. Czy mieszaniny metabolitów dwóch różnych populacji *P. agardhii* wpływają w różny sposób na biomasę, zawartość chlorofilu-a i oligopeptydów w biomasie naturalnej populacji tego gatunku?

P2. Czy i jak zmienia się skład oligopeptydów produkowanych przez *P. agardhii* po ekspozycji na różne mieszaniny pozakomórkowych oligopeptydów i innych metabolitów produkowanych w naturalnych warunkach przez ten gatunek?

H2. Metabolity produkowane przez *P. agardhii*, w tym oligopeptydy inne niż mikrocytyny, wpływają negatywnie na rozwój makrofitu *Spirodela polyrhiza* oraz zawartość chlorofilu-a w roślinie.

Hipotezę weryfikowano odpowiadając na następujące pytania badawcze:

P1. Jak ekstrakty sinicowe uzyskane z różnych biomas sinic zdominowanych przez *P. agardhii*, zawierające różne stężenia mikrocytyn i charakteryzujące się różnym składem oligopeptydów wpływają na system korzeniowy, wzrost pierwszego liścia, całkowitą biomasę młodej *S. polyrhiza* i zawartość w niej chlorofilu-a?

P2. Jaki jest udział oligopeptydów innych niż mikrocytyny w toksyczności sinic wobec roślin wodnych?

H3. Mikrobiota *S. polyrhiza* wykazuje podobną strukturę po ekspozycji na różne mikrocytyny i jest zdolna do ich degradacji, przy czym konsorcja mikroorganizmów mogą rozkładać MC-RR, MC-LR i MC-LF na różnych szlakach, wytwarzając różne produkty degradacji toksyn.

Hipoteza została pośrednio zweryfikowana poprzez odpowiedź na następujące pytania badawcze:

P1. Jak kształtuje się struktura mikrobioty *S. polyrhiza* po ekspozycji na trzy różne warianty mikrocystyn (MC-RR, MC-LR i MC-LF)?

P2. Czy i w jakim stopniu eksponowane mikrocystyny ulegają biodegradacji w obecności *S. polyrhiza* i/lub jej mikrobioty?

P3. Które taksony (rodzaje/gatunki) bakterii tworzące mikrobiotę spirodeli wielokorzeniowej mogą odpowiadać za rozkład toksyn i jak kształtują się szlaki bakteryjnego metabolizmu badanych mikrocystyn?

4.3.3. Osiągnięte wyniki

Postawione hipotezy badawcze weryfikowałam w ramach wielokierunkowych badań eksperymentalnych i laboratoryjnych, analiz mikroskopowych, analiz mikrocystyn i produktów ich rozkładu technikami HPLC-PDA i LC-MS/MS oraz badań genetycznych, których wyniki (**Publ. 1-4**) stanowią osiągnięcie naukowe proponowane jako podstawa wszczęcia postępowania habilitacyjnego. Można zawrzeć je w następujących punktach:

- 1) Wpływ mieszanin metabolitów z biomas zespołów sinic zdominowanych przez *P. agardhii* na biomasę gatunku i zawartość w niej chlorofilu-a oraz oligopeptydów
- 2) Wpływ mieszanin metabolitów z biomas zespołów sinic zdominowanych przez *P. agardhii* oraz czystej mikrocystyny-LR na rozwój makrofitu *Spirodela polyrhiza*
- 3) Struktura mikrobioty *S. polyrhiza* po ekspozycji na MC-RR, MC-LR i MC-LF
- 4) Biodegradacja MC-RR, MC-LR i MC-LF przez mikrobiotę *S. polyrhiza*

1) Wpływ mieszanin metabolitów z biomas zespołów sinic zdominowanych przez *P. agardhii* na biomasę gatunku i zawartość w niej chlorofilu-a oraz oligopeptydów

Przeprowadzone przeze mnie siedmiodniowe eksperymenty (Toporowska i in. 2020, **Publ. 2**) obejmowały zbadanie wpływu dwóch wodnych ekstraktów uzyskanych z dwóch różnych biomas kożuchów zdominowanych przez *P. agardhii* (odpowiednio 95% i 82% udział w ogólnej biomasie w Pa-A i Pa-B), pobranych w jeziorach wschodniej Polski (Pa-A – Jezioro Syczyńskie; Pa-B – Jezioro Czarne Sosnowickie), na naturalną populację *P. agardhi* pozyskaną z Jeziora Syczyńskiego. **Podobne badania nie były uprzednio prowadzone. Należy zaznaczyć, że istotnym aspektem badań nad naturalnymi populacjami toksynotwórczych**

sinic jest możliwość obserwacji bardziej złożonych zjawisk niż w przypadku eksperymentów prowadzonych na szczepach laboratoryjnych. Biomasy kożuchów sinicowych zdominowanych przez *P. agardhii* wykazywały niewielki udział innych taksonów sinic (Pa-A: 5% *Microcystis aeruginosa*; Pa-B: 10% *Microcystis* spp. i 8% *Aphanizomenon gracile*) oraz znaczne różnice w składzie i stężeniach mikrocystyn (10-krotnie wyższe stężenia w Pa-A niż w Pa-B), profilu innych oligopeptydów oraz stężeniach związków biogennych P-PO₄ i N-NO₃ (odpowiednio 2- i 3-krotnie wyższe stężenia w Pa-B niż w Pa-A). Oddziaływaniu ekstraktów, charakteryzujących się zbliżonymi stężeniami chlorofilu-a (0,33–2,58 i 0,33–2,63 mg/L odpowiednio dla ekstraktu Pa-A i Pa-B) poddałam próbę fitoplanktonu zawierającą naturalną populację *P. agardhii*, której udział w biomacie fitoplanktonu wynosił 96%. Próba stanowiła także kontrolę eksperymentu w analizie zmian w profilu produkowanych oligopeptydów (starting point; d0). **Oba badane ekstrakty zawierały podobną liczbę oligopeptydów, lecz znacznie różniły się ich składem jakościowym**, co potwierdza niska wartość indeksu podobieństwa Jaccarda ($J=0,16$). **Po siedmiu dniach ekspozycji *P. agardhii* na oba ekstrakty wzrosła zarówno biomasa gatunku jak i zawartość chlorofilu-a w przeliczaniu na biomasę *P. agardhii*.** Zjawisku temu towarzyszył nieznaczny spadek biomasy współwystępujących gatunków sinic, z wyjątkiem *Aphanothece* sp. Mikrocystyny, których stężenie w wariantach z ekstraktem Pa-B było około 13-krotnie wyższe niż w wariantach z ekstraktem Pa-A, nie hamowały wzrostu *P. agardhii* i nie miały żadnego negatywnego wpływu na zawartość chlorofilu-a w komórkach *P. agardhii*. Mimo, że produkcja bioaktywnych oligopeptydów przez sinice może wzmacniać wzrost ich biomasy (Kurmayer i in. 2016, Hu i Rzymiski 2019), **uzyskane wyniki wskazują, że obserwowany przeze mnie wzrost biomasy *P. agardhii* (Toporowska i in. 2020, Publ. 2) wynikał raczej z wysokiego stężenia składników odżywczych wyekstrahowanych z komórek sinic, które zawierają znaczne ilości wbudowanych związków biogennych (Eybe i in. 2008), niż obecności specyficznych metabolitów wtórnych, w tym oligopeptydów innych niż mikrocystyny.** Co istotne, **rosnące stężenia metabolitów *P. agardhii* nie zmieniły również całkowitej zawartości mikrocystyn w biomacie sinic, jednakże stwierdziłam zmiany we względnym udziale pochodnej MC-LR (dmMC-LR) i MC-RR.** Udział dmMC-LR w całkowitej zawartości mikrocystyn był najniższy w kontrolach a najwyższy w wariantach eksperymentalnych z ekstraktami o stężeniu chlorofilu-a wynoszącym około 1,3 mg/L (Toporowska i in. 2020, **Publ. 2**). Natomiast MC-RR została wykryta w eksperymencie z ekstraktem Pa-A w wariantcie ze stężeniem chlorofilu-a wynoszącym 0,66 mg/L, zaś w eksperymencie z ekstraktem Pa-B w wariantcie z najwyższym zastosowanym stężeniem

ekstraktu (2,63 mg/L). Wydaje się, że różne stężenia mikrocytyn w ekstraktach nie miały wpływu na zawartość mikrocytyn w eksponowanym *P. agardhii*. Jest to zgodne z badaniami Scherer i in. (2017), którzy wykazali, że czysta MC-LR (10 i 60 µg/L) nie zmieniła znacząco ekspresji *mcyB* i *mcyD* odpowiedzialnych za produkcję mikrocytyn przez *M. aeruginosa*. Z drugiej strony Schatz i in. (2007) zaobserwowali, że liza komórek *Microcystis*, w połączeniu z MC-LR lub mikropeptyną i mikrogininą, wywołała produkcję mikrocytyn w komórkach poprzez nieznany proces autoindukcji. Tonk i in. (2007) wykazali zmienny stosunek dmMC-RR do dmMC-LR w odpowiedzi na zmieniającą się intensywność światła, a *P. agardhii* stawał się bardziej toksyczny przy jego wysokim natężeniu. **Przeprowadzone badania (Toporowska i in. 2020, Publ. 2) wykazały, że *P. agardhii* miał najwyższy potencjał toksyczności w optymalnych warunkach wzrostu, prawdopodobnie związany z niższą dostępnością światła spowodowaną samozacienieniem komórek i zmianą koloru wody przez dodane ekstrakty. Wydaje się, że około dwukrotne zmniejszenie udziału dmMC-LR w całkowitej zawartości mikrocytyn w wariantach z najwyższymi stężeniami ekstraktu, w których biomasa *P. agardhii* zmniejszyła się lub przestała wzrastać, może sugerować, że zawartość dmMC-LR może być związana z zagęszczeniem nici *P. agardhii*.**

Po ekspozycji *P. agardhii* na ekstrakty Pa-A i Pa-B w porównaniu do kontroli zaobserwowano znaczną zmienność składu oligopeptydów produkowanych przez sinice (Toporowska i in. 2020, Publ. 2). Na skutek działania ekstraktów z różnych zespołów sinic zdominowanych przez *P. agardhii* i zawierających peptydy, ale także duże ilości związków biogennych, odnotowano pojawienie się nowych peptydów ([Asp³, MeSer⁷]MC-RR, MC-RR, aeruginozamidu - AERD, niektórych aeruginozyn - AER, mikrogininy - MRG, niektórych cyjanopeptolin – CPL i anabaenopeptyn - AP) i utratę niektórych innych, głównie niezidentyfikowanych oligopeptydów, w biomasie *P. agardhii*. W *P. agardhii* eksponowanym na ekstrakt Pa-A dominowały aeruginozyny, których liczba wariantów była nieznacznie wyższa niż liczba wariantów cyjanopeptolin, mikrocytyn i anabaenopeptyn. W *P. agardhii* eksponowanym na ekstrakt Pa-B stwierdzono zbliżony udział cyjanopeptolin, aeruginozyn, anabaenopeptyn i mikrocytyn oraz niezidentyfikowanych peptydów. Mikrogininy i aeruginozamidy, nieobecne w kontroli, wykazywały niski udział w ogólnej liczbie oligopeptydów w eksponowanym *P. agardhii*. **Podobieństwo pomiędzy profilami oligopeptydów (rozpatrywane w kontekście *P. agardhii* eksponowany na ekstrakty vs kontrola, vs profil oligopeptydów w ekstraktach) było najwyższe w przypadku *P. agardhii* eksponowanego na oba ekstrakty (J=60), zaś najniższe w porównaniu do profilu**

oligopeptydów z ekstraktu Pa-B (J=0,10-0,15), co zaprzecza zjawisku bioakumulacji rozpuszczonych oligopeptydów w eksponowanym *P. agardhii*. Badania tego typu przeprowadzono po raz pierwszy. Całkowita zawartość oligopeptydów w biomasie *P. agardhii* po ekspozycji na ekstrakt Pa-A była nieco wyższa, natomiast w *P. agardhii* poddanemu działaniu ekstraktu Pa-B wynosiła ok. 25% mniej niż w kontroli. Różnorodność profili oligopeptydów w trzech różnych biomasach zdominowanych przez *P. agardhii* (biomasy Pa-A i Pa-B, kontrola eksperymentalna) potwierdza wcześniejsze doniesienia (Rohrlack, i in. 2007, Grabowska i in. 2014), wskazujące na współistnienie kilku chemotypów w obrębie populacji *P. agardhii* tworzących zakwity wód. Względna liczebność poszczególnych chemotypów w naturalnych zbiorowiskach, a także sezonowe zmiany w ich udziałach, stanowią kluczowe czynniki modulujące toksyczność zakwitu (Rohrlack i in. 2008, Scherer i in. 2017, Toporowska i in. 2020, Publ. 2). **Zmiany w składzie oligopeptydów wskazujące na zmiany w liczebności poszczególnych chemotypów w populacji *P. agardhii* mogą zachodzić szybko, stanowiąc odpowiedź na rozpuszczone związki i składniki odżywcze sinic (Toporowska i in. 2020, Publ. 2).** Jednocześnie mogą one wynikać z efektów pośrednich takich jak różna przeżywalność poszczególnych chemotypów w warunkach eksperymentalnych i/lub przetwarzanie związków biogennych przez powiązane zespoły mikroorganizmów (Steiner i in. 2017).

2) Wpływ mieszanin metabolitów z biomas zespołów sinic zdominowanych przez *P. agardhii* i czystej mikrocystyny-LR na rozwój makrofity *Spirodela polyrhiza*

W związku z faktem, że wiedza na temat wpływu mieszanin metabolitów sinicowych oraz oligopeptydów innych niż mikrocystyny na makrofity jest bardzo ograniczona (Romanowska-Duda i in. 2002, Wiegand i in. 2002, Saqrane i in. 2007, Máthé i in. 2013), **po raz pierwszy przeprowadzono kompleksowe badania młodych, 72-godzinnych roślin *Spirodela polyrhiza*, eksponując je na czystą MC-LR oraz dwa surowe ekstrakty uzyskane z dwóch biomas sinic (Pa-A i Pa-B) zdominowanych przez *P. agardhii*, pochodzących z Jeziora Syczyńskiego (Pawlik-Skowrońska i in. 2018, Publ. 1).** Ekstrakty te różniły się **profilem oligopeptydowym**: ekstrakt Pa-A pochodził z biomasy kożucha i zawierał wyższe stężenia mikrocystyn, natomiast ekstrakt Pa-B, który uzyskałam z zagęszczonej biomasy fitoplanktonu, zawierał 27-krotnie niższe całkowite stężenie mikrocystyn lecz był wzbogacony m.in. o anabaenopeptyny (np. AN H, G, HU892 i E/F) i planktocyklinę, które nie występowały

w ekstrakcie Pa-A. Dotychczasowe badania wykazały, że surowe ekstrakty sinicowe zawierające mikrocytyny czy cylindrospermopsynę oraz nieokreślone mieszaniny innych metabolitów, negatywnie wpływały na komórki makrofitów (Máthé i in. 2013 i prace cytowane). **Przeprowadzone eksperymenty pozwoliły po raz pierwszy określić wpływ ekstraktów sinicowych o zdefiniowanym profilu oligopeptydowym na rozwój makrofitów: wzrost roślin (pomiar powierzchni pierwszego liścia i biomasy roślin), rozwój korzeni i zawartość chlorofilu-a w roślinach (Pawlik-Skowrońska i in. 2018, Publ. 1). Efekt toksyczny był silniejszy wobec rozwoju liści i korzeni niż zawartości chlorofilu-a.** Po 72-godzinnej ekspozycji zarówno czysta MC-LR jak i ekstrakty zahamowały istotnie wzrost liści młodej spirodeli, jak i obniżyły całkowitą biomasę roślin. **Co istotne, ekstrakt Pa-B wykazywał silniejszy efekt toksyczny pomimo 13-krotnie niższego stężenia mikrocytyn niż w ekstrakcie Pa-A.** Czysta mikrocytyna-LR, o prawie 3-krotnie i 38-krotnie wyższym stężeniu niż maksymalne zastosowane stężenie mikrocytyn w eksperymentach odpowiednio z ekstraktem Pa-A i Pa-B, hamowała rozwój korzeni i produkcję chlorofilu-a, jednak wpływ ten nie był istotny statystycznie. Natomiast **oba ekstrakty znacząco ograniczały wzrost korzeni, przy czym efekt był silniejszy w przypadku ekstraktu Pa-B.** Statystycznie istotne zmniejszenie produkcji chlorofilu-a zaobserwowano jedynie po ekspozycji na ekstrakt **Pa-B.** Podobne negatywne skutki oddziaływania mikrocytyn bądź ekstraktów je zawierających na wzrost korzeni oraz zawartość chlorofilu-a były wcześniej obserwowane u roślin naczyniowych (Máthé i in. 2013 i prace cytowane), jednak badania te nie uwzględniały wpływu oligopeptydów innych niż mikrocytyny. **Uzyskane wyniki sugerują, że oligopeptydy *P. agardhii* inne niż mikrocytyny mogą być bardziej toksyczne względem młodej *S. polyrrhiza* i wykazywać nawet silniejsze działanie toksyczne niż czysta MC-LR (Pawlik-Skowrońska i in. 2018, Publ. 1).** Wśród profilu peptydowego badanych biomas sinicowych znajdowały się inhibitory enzymów o potwierdzonej cytotoksyczności oraz aktywności hamującej wobec proteaz i fosfataz białkowych, a także karboksypeptydaz (Welker i von Döhren 2006, Namikoshi i Rinehart 1996 i prace cytowane, Mazur-Marzec i in. 2015, Harms i in. 2016). O możliwe toksycznym działaniu oligopeptydów sinicowych innych niż mikrocytyny donoszono w przypadku roślin lądowych (Mazur-Marzec i in. 2015). **Obserwowane zahamowanie rozwoju młodych makrofitów (Pawlik-Skowrońska i in. 2018, Publ. 1) przyczynia się do lepszego zrozumienia mechanizmu zubożenia populacji makrofitów obserwowanego w zbiornikach wodnych zdominowanych przez sinice (Tarkowska-Kukuryk i Mieczan 2017).** Mimo doniesień o bioakumulacji mikrocytyn w roślinach wodnych (Mitrovic i in. 2005, Saqrane i in. 2007), moje badania nie potwierdziły tego

zjawiska po 9-dniowej ekspozycji kilku tygodniowych roślin *S. polyrhiza* na czyste MC-RR, MC-LR i MC-LF (Toporowska 2022, **Publ. 3**).

3) Struktura mikrobioty *S. polyrhiza* po ekspozycji na MC-RR, MC-LR i MC-LF

Kolejne przeprowadzone eksperymenty ekotoksykologiczne (Toporowska 2022, **Publ. 3**, Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**) pozwoliły mi na przeanalizowanie różnic w strukturze zespołów mikroorganizmów *S. polyrhiza* po 9-dniowej ekspozycji na czystą MC-RR, MC-LR i MC-LF. Badania takie nie były dotychczas prowadzone. Co więcej, struktura jakościowa i ilościowa zespołów mikrobiologicznych *S. polyrhiza* jest rzadko badana i nadal słabo rozpoznana szczególnie w Europie (Kim 2004, Matsuzawa i in. 2009, Iwashita i in. 2020, Inoue i in. 2022). Na przykład Kim (2004) wykazał, że w naturalnym środowisku mikrobiota zanurzonych części *S. polyrhiza* może składać się z różnych bakterii, niektórych gatunków sinic i okrzemek. Badana mikrobiota (Toporowska 2022, **Publ. 3**, Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**), prawdopodobnie pochodząca z niesterylizowanych turionów, rozwinęła się na spirodeli w warunkach laboratoryjnych. Przeprowadziłam dwa niezależne eksperymenty: pierwszy z udziałem *S. polyrhiza* i jej mikrobioty eksponowanych na mikrocystry w wodzie wodociągowej ubogiej w związki odżywcze (Toporowska 2022, **Publ. 3**), drugi wyłącznie na mikrobiocie *S. polyrhiza* pochodzącej z hodowli makrofitytów, eksponowanej na mikrocystry w pożywce Steinberga (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**). W obu eksperymentach po dziewięciu dniach ekspozycji konsorcja mikrobiologiczne *S. polyrhiza*, składające się z bakterii i glonów, różniły się istotnie w stosunku do kontroli eksperymentalnych, w których rozwinęły się prawie wyłącznie i mniej licznie bakterie.

Po 9-dniowej ekspozycji na mikrocystry mikrobiota *S. polyrhiza* wykazywała podobieństwo w strukturze do mikrobioty Lemnaceae środowisk naturalnych (Kim 2004, Matsuzawa i in. 2009, Iwashita i in. 2020, Inoue i in. 2022). **Profilowanie mikrobiomu oparte na sekwencjonowaniu po ekspozycji na mikrocystry mikrobioty bez rośliny gospodarza** (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**) wykazało, że konsorcja bakteryjne *S. polyrhiza* charakteryzowały się występowaniem grup bakterii odkrytych uprzednio w mikrobiocie *Lemna minor* i *L. aequinoctialis* (Iwashita i in. 2020). Jednakże były one znacznie bardziej zróżnicowane pod względem struktury (odpowiednio 29 i 478 grup na poziomie typu i rodzaju) z przewagą bakterii z rodzaju *Methylophilus*, którym towarzyszyły *Chrysobacterium*, *Pseudomonas*, *Caulobacter*, *Rhizobium*, *Brevundimonas*, *Acidovorax*,

***Muribaculaceae*, *Aminobacter* i *Sediminibacterium* (Toporowska i in. 2024, Publ. 4).** Typ **Proteobacteria** dominował we wszystkich analizowanych próbkach (80,1–88,8% względnej liczebności), zaś kolejnymi najliczniejszymi typami były **Bacteroidota** (7,6–15,0%) i **Firmicutes** (2,0–6,5%). Spośród 11 typów bakterii zasiedlających rzęsy wodne w naturalnym środowisku (Iwashita i in. 2020), typ **Proteobacteria** dominował na liściach (57,3%–62,4%), korzeniach (48,1%–59,6%) i w wodzie stawu (43,3%) zasiedlanego przez *Lemnaceae*. Ponadto rzadko identyfikowana w naturze grupa bakterii *Verrucomicbiota* występowała również w omawianym badaniu, ale w małej liczebności (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**). Matsuzawa i in. (2009) wykryli obecność *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Bacteroidetes* i wyżej wymienioną grupę *Verrucomicbiota* w izolatach ryzoplanowych *S. polyrhiza*. Najnowsze badanie przeprowadzone na rodzinie *Lemnaceae* (Inoue i in. 2022) ujawniło siedem rodzin bakterii (*Comamonadaceae*, *Caulobacteraceae*, *Methylophilaceae*, *Oxalobacteraceae*, *Sphingomonadaceae*, *Rhizobiaceae* i *Rhodospirillaceae*) jako konserwatywne taksony rdzeniowe mikrobioty *Lemnaceae*. *Chlorella* sp. i zielenicowe wiciowce (*Chlorophyceae*) były stałym elementem mikrobioty *S. polyrhiza* w obu eksperymentach (Toporowska 2022, **Publ. 3**, Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**), podczas gdy zielenicę *Kirchneriella* sp. stwierdziłam tylko w jednej z kontroli z MC-RR w badaniu z udziałem makrofitów (Toporowska 2022, **Publ. 3**). Okrzemki *Navicula* sp. odnotowałam jedynie w eksperymencie z mikrobiotą i makrofitami, co sugeruje, że występowanie tego taksonu w konsorcjach mikrobiologicznych *S. polyrhiza* może być silnie uzależnione od obecności rośliny gospodarza. Po dziewięciu dniach ekspozycji liczebność eukariontów z dominacją *Chlorella* sp. była kilkudziesięciokrotnie niższa od liczebności komórek bakteryjnych w eksperymentach bez rośliny gospodarza (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**) oraz od kilkuset (w przypadku wariantów z MC-RR i MC-LR) do ponad 4500 (w przypadku MC-LF) razy niższa w eksperymencie na mikrobiocie z rośliną gospodarzem (Toporowska 2022, **Publ. 3**). W eksperymencie bez udziału makrofitów liczebność bakterii po dziewięciu dniach ekspozycji była prawie 11-krotnie wyższa niż w doświadczeniu ze spirodelą i jej mikrobiotą, natomiast komórek *Chloralla* sp. odnotowano 160-krotnie, a wiciowców 1000-krotnie więcej.

Przeprowadzone przeze mnie eksperymenty i uzyskane wyniki są pierwszymi tego typu i sugerują różny, zależny od warunków środowiskowych, wpływ poszczególnych mikrocystyn i/lub mikrocystyn i produktów ich degradacji na bakterie i mikroorganizmy eukariotyczne *S. polyrhiza* (Toporowska 2022 Publ. 3, Toporowska i in. 2024, Publ. 4). Obserwacja ta jest zgodna z wcześniejszymi odkryciami dotyczącymi wpływu niektórych

mikrocystyn na bakterie heterotroficzne i przedstawicieli fitoplanktonu (Omidi i in. 2021 i prace cytowane, Santos i in. 2022). Wyniki eksperymentów z *S. polyrhiza* i jej mikrobiotą, prowadzone w środowisku ubogim w związki odżywcze (Toporowska 2022, **Publ. 3**), sugerowały, że po 9-dniowej ekspozycji spośród badanych wariantów mikrocystyn MC-RR była najbardziej toksyczna względem bakterii. Średnia liczebność bakterii w wariantach z MC-RR ($7,9 \times 10^6$ komórek/mL) była statystycznie różna i ponad dwukrotnie niższa niż w wariantach z MC-LF ($17,5 \times 10^6$ komórek/mL) oraz niższa, choć nieistotna statystycznie, niż w wariantach z MC-LR ($9,3 \times 10^6$ komórek/mL). Niemniej, eksperymenty z mikrobiotą pochodzą z hodowli *S. polyrhiza* (bez rośliny gospodarza), prowadzone w środowisku zawierającym związki odżywcze, nie potwierdziły tej obserwacji: mimo najniższej średniej liczebności bakterii w wariantach z MC-RR, nie stwierdzono istotnych różnic w liczebności bakterii pomiędzy wariantami eksperymentalnymi (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**). **Również dane uzyskane z sekwencjonowania amplikonów genu 16S rRNA mikrobiomu (przy podobnej liczbie gatunków w trzech wariantach eksperymentalnych) nie wykazały istotnych różnic pomiędzy wariantami w relatywnej liczebności bakteryjnych taksonów na poziomie typu i rodzaju. Dopiero dodatkowe analizy statystyczne sugerowały pewne mniejsze różnice w różnorodności alfa i beta.** Na przykład wskaźniki Simpsona i Shannona wskazały, że mikrobiota roślin po 9-dniowej inkubacji z MC-LR mogła mieć mniej równomierny rozkład liczebności niż w dwóch pozostałych wariantach eksperymentalnych. Wskaźniki różnorodności beta nie wykazały statystycznie istotnych różnic między społecznościami mikrobiologicznymi w analizowanych grupach. Jednak analizy zmienności między grupami, badane różnymi metodami, sugerowały taksony o istotnych różnicach, a także pewne różnice w ich rozmieszczeniu między grupami. Na przykład test T wykazał na poziomie typu, że liczebność Proteobacteria była istotnie wyższa w wariantach eksperymentalnych z MC-LR niż w wariantach z MC-LF. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic we względnej liczebności na poziomie typu między wariantami z MC-RR i MC-LR. Na poziomie rodzaju porównanie między wariantami z MC-RR i MC-LR wykazało niższą liczebność *Methylophilus* i większą liczebność taksonów *Caulobacter*, *Brevundimonas*, *Hydrogenophaga*, *Alistipes* i *Blastomonas* w wariantach eksperymentalnych z MC-RR vs MC-LR. Warianty eksperymentalne z MC-RR wykazały również większą liczebność *Hydrogenophaga*, grupy *Lachnospiraceae* NK4A136 i *Heliimonas*, ale mniejszą liczebność grupy jelitowej *Rikenellaceae* RC9, grupy *Ruminococcus torques*, *Desulfovibrio* i grupy taksonów NK4A214 na poziomie rodzaju w porównaniu z wariantem z MC-LF. *Caulobacter*, *Brevundimonas*, *Bosea*, *Helicobacter*, grupa jelitowa *Rikenellaceae* RC9, grupa *Ruminococcus torques*,

Desulfovibrio i grupa NK4A214 wykazywały wyższą zawartość w wariancie z MC-LF niż z MC-LR. W eksperymencie z udziałem makrofitów MC-LF, która wydawała się, jak wspomniałam, charakteryzować najniższą toksycznością względem bakterii, wykazała najwyższą toksyczność względem *Chlorella* sp. (najniższa stwierdzona liczebność $1,91 \times 10^3$ komórek/mL w porównaniu z innymi wariantami eksperymentalnymi) i *Navicula* sp. (Toporowska 2022, **Publ. 3**), czego, podobnie jak w przypadku bakterii, nie potwierdziły badania przeprowadzone na mikrobiocie bez rośliny gospodarza (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**). Ponadto uzyskane wyniki wskazywały na wyższą toksyczność MC-RR niż pozostałych badanych wariantów mikrocytyn względem zielenicowych wiciowców, co z kolei było sprzeczne w wynikami z pierwszego eksperymentu (Toporowska 2022, **Publ. 3**). Otrzymane wyniki wskazują, że **zwiększona dostępność składników odżywczych może wpływać na wyższą odporność bakterii i glonów na mikrocystyny. Ponadto, zaobserwowane zjawisko może wykazywać specyficzność gatunkową lub nawet szczepową**, co zostało niedawno stwierdzone w badaniach dotyczących bakterioplanktonu (Santos i in. 2022).

Toksyczność poszczególnych wariantów mikrocystyn różni się znacząco, a MC-LR i MC-LA są jednymi z najbardziej toksycznych wariantów w testach na myszach (Chorus i Welker 2021 i prace cytowane). Z kolei Vesterkvist i in. (2003) i Fischer i in. (2010) wykazali w testach komórkowych, że MC-LW i MC-LF mogą być bardziej toksyczne niż MC-LR. Co istotne, Isobe i in. (2014) stwierdzili, że niektóre nieznane związki biodegradacji MC-LR wykazywały niższą toksyczność niż czysta MC-LR (test hamowania fosfatazy białkowej, PPIA). **W związku z tym wydaje się, że proces biodegradacji mikrocystyn oraz obecność różnych produktów biodegradacji, wykazane w niniejszych badaniach i omówione poniżej, mogły również wpływać na obserwowane różnice w strukturze ilościowej eukariotycznej mikrobioty *S. polyrhiza* w obu eksperymentach (Toporowska 2022, **Publ. 3**, Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**).** Co ciekawe, w badaniu mikrobioty *Spirodela* eksponowanej na mikrocystyny przy nieobecności rośliny gospodarza (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**) zaobserwowałam podobną szybkość degradacji MC-LR i MC-RR. Jednak w badaniu przeprowadzonym w środowisku ubogim w składniki odżywcze i w obecności roślin (Toporowska 2022, **Publ. 3**), MC-RR, która zawiera dwie argininy i jest lepszym źródłem azotu dla bakterii, ulegała degradacji średnio trzy razy szybciej niż MC-LR. Ponadto produkty degradacji obu toksyn wykryto po czterech dniach ekspozycji. Mogła na to wpływać różna dostępność związków odżywczych w obu eksperymentach, modulująca aktywność mikrobiologiczną mikrobioty, choć nie można wykluczyć wpływu różnic w strukturze

zespołów mikroorganizmów, wynikających z różnic siedliskowych (obecność lub brak rośliny gospodarza) opisanych uprzednio przez Iwashita i in. (2020). Kwestie te wymagają dalszych badań, zwłaszcza w kontekście wykazania wśród bakterii eksponowanych na mikrocystyny (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**) obecności taksonów uprzednio zidentyfikowanych jako zdolne do biodegradacji tych toksyn (Dziga i in. 2013, Li i in. 2016, Li i in. 2017, Massey i Yang 2020, i Quer i in. 2024 i prace cytowane). Nie przeprowadzono natomiast sekwencjonowania metagenomu mikrobioty w ramach pierwszego doświadczenia (Toporowska 2022, **Publ. 3**), co uniemożliwia porównanie struktury konsorcjów bakteryjnych po ekspozycji na mikrocystyny w obu eksperymentach, ale daje podstawę do poszerzenia i kontynuacji omawianych badań. Mogą one odegrać ważną rolę w rozwoju technologii oczyszczania wody w celu usuwania mikrocystyn poprzez zastosowanie makrofitów i/lub powiązanej z nimi mikrobioty.

4) Biodegradacja MC-RR, MC-LR i MC-LF przez mikrobiotę *S. polyrhiza*

Przeprowadzone przeze mnie eksperymenty jednoznacznie wykazały istotny statystycznie spadek stężenia, w stosunku do kontroli, MC-RR i MC-LR, ale nie MC-LF, po 9-dniowej inkubacji z mikrobiotą i *S. polyrhiza* (Toporowska 2022, **Publ. 3) oraz mikrobiotą bez spirodeli (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**). Spadek stężenia MC-LR był silniejszy po ekspozycji na mikrobiotę niż mikrobiotę i rośliny, przy czym w eksperymencie bez makrofitów liczebność bakterii po 9-dniowej ekspozycji była prawie 11-krotnie wyższa niż w doświadczeniu ze spirodelą i jej mikrobiotą, natomiast komórek *Chloralla* sp. odnotowano 160-krotnie, a wiciowców 1000-krotnie więcej. Analiza HPLC-PDA wykazała sześć produktów rozkładu MC-RR, dwa produkty rozkładu MC-LR oraz cztery produkty rozkładu MC-LF po ekspozycji na *S. polyrhiza* i jej mikrobiotę (Toporowska 2022, **Publ. 3**). Po ekspozycji na mikrobiotę bez rośliny gospodarza, wykryłam siedem produktów rozkładu MC-RR i dwa produkty rozkładu MC-LR (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**). Trzy produkty (oznaczone X) nie były zidentyfikowane we wcześniejszym badaniu (Toporowska 2022, **Publ. 3**). Były to dwa nowe produkty MC-RR i jeden MC-LR. Identyfikacja produktów rozkładu techniką LC-MS/MS potwierdziła wyniki badań uzyskane techniką HPLC i wykazała dwa i siedem produktów biodegradacji odpowiednio dla MC-LR i MC-RR po ekspozycji na mikrobiotę *S. polyrhiza*. **W niniejszym badaniu osiem produktów zidentyfikowano i opisano po raz pierwszy.** Jedynym znanym dotychczas produktem biodegradacji**

mikrocystyn (Bourne i in. 1996) wykrytym w badaniu był tetrapeptyd (m/z 614,5). W przypadku produktów rozkładu MC-LR były to cząsteczki o strukturze linearnej (m/z 968 i 953), natomiast w przypadku MC-RR jeden produkt posiadał strukturę cykliczną (m/z 1011), pozostałe zaś miały struktury linearne (m/z 984, 969, 877, 862, 820, 614,5). W eksperymencie z udziałem *S. polyrhiza* i jej mikrobioty produkty rozkładu występowały już po czterech dniach ekspozycji (Toporowska 2022, **Publ. 3**). Były to dwa produkty rozkładu MC-RR (D-RR i F-RR) i jeden produkt MC-LR (B-LR), których stężenia wzrosły po dziewięciu dniach ekspozycji. Jak już wspomniano, stężenie czystej MC-LF nie spadło istotnie statystycznie względem kontroli, jednakże analiza HPLC wykazała obecność produktów rozkładu tej mikrocystyny: dwa z nich (A-LF i C-LF) stwierdzono w kontroli po czterech dniach eksperymentu, natomiast w wariantach z *S. polyrhiza* i jej mikrobiotą po 4-dniowej inkubacji wykryto A-LF i C-LF, zaś A-LF i B-LF stwierdzono po dziewięciu dniach inkubacji. W odróżnieniu od produktów degradacji MC-RR i MC-LR stężenie produktów degradacji MC-LF było niskie i nie wzrastało wraz z czasem. Nie można jednoznacznie stwierdzić, czy pojawienie się produktów degradacji MC-LF mogło być spowodowane aktywnością mikrobiologiczną czy czynnikami abiotycznymi. Edwards i in. (2008), wykazali biodegradację MC-LF w procesie innym niż biodegradacja MC-RR i MC-LR, obejmującym demetylację, hydrolizę, dekarboksylację i kondensację związków macierzystych. W eksperymencie na mikrobiocie roślinnej bez udziału rośliny gospodarza (Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**), produkty biodegradacji były wykryte dopiero po dziewięciu dniach ekspozycji (z wyjątkiem produktu A-LF wykrytego w kontroli po czterech dniach ekspozycji), a MC-RR i MC-LR były degradowane w podobnym tempie (60 i 70%). Tempo degradacji MC-RR było bardziej zróżnicowane w poszczególnych powtórzeniach. W eksperymencie z udziałem rośliny gospodarza stwierdziłam zaś trzykrotnie wyższą szybkość degradacji MC-RR (61%) niż MC-LR (21%) (Toporowska 2022, **Publ. 3**). Oba omawiane eksperymenty były prowadzone w tych samych warunkach oświetlenia i temperatury, jednakże w różnych mediach (woda wodociągowa i pożywka Steinberga). Bakterie mogą wykorzystywać mikrocystyny jako źródło azotu, przy czym jak już wspomniałam, posiadająca dwie argininy MC-RR jest bogatsza w azot i stanowi dla bakterii lepsze jego źródło niż rozkładana w wolniejszym tempie MC-LR. Różna dostępność związków niezbędnych do wzrostu bakterii w obu eksperymentach mogła przyczynić się do zakresu i tempa obserwowanego zjawiska biodegradacji mikrocystyn. W obu badaniach proces degradacji mikrocystyn, który może trwać od kilku godzin (Yang i in. 2020) do kilku dni (Idroos i in. 2017), był wolniejszy niż obserwowany w większości eksperymentów z bakteriami izolowanymi ze środowisk naturalnych (Dziga i in. 2013), szczególnie w tych

z historią zakwitów sinicowych (Edwards i in. 2008, Dziga i in. 2017). **Omawiane wyniki wykazują, że MC-RR, MC-LR i MC-LF mogą ulegać różnym transformacjom (Toporowska 2022, Publ. 3, Toporowska et al. 2024, Publ. 4) i potwierdzają wcześniejsze doniesienia na ten temat względem MC-RR, wykazujące, że różne bakterie występujące w naturalnych jeziorach i sztucznych zbiornikach wodnych wytwarzają różne produkty biodegradacji (Zhang i in. 2010, Wang i in. 2010, i Quer i in. 2024).**

We wszystkich analizowanych próbkach mikrobioty *S. polyrhiza* poddanej sekwencjonowaniu (Toporowska i in. 2024, Publ. 4) w obrębie sklasyfikowanych rodzajów zidentyfikowano taksony obejmujące gatunki/szczepy znane jako zdolne do degradacji mikrocystyn (Dziga i in. 2013, Li i in. 2016, Li i in. 2017, Massey i Yang 2020, i Quer i in. 2024 i prace cytowane), **takie jak *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Brevibacillus*, *Brevibacterium*, *Lactobacillus*, *Lysinibacillus*, *Methylobacillus*, *Methylophilus*, *Morganella*, *Paucibacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas*, *Sphingopyxis* i *Stenotrophomonas*, a także rodzaje, które zostały uznane za części różnych społeczności bakteryjnych zdolnych do rozkładu mikrocystyn (*Bosea*, *Brevundimonas*, *Chryseobacterium*, *Hyphomicrobium*, *Klebsiella*, *Polaromonas*, *Pseudoxanthomonas*, *Sphingobium* i *Variovorax*) (Toporowska i in. 2024, Publ. 4). Co istotne, są to pierwsze badania wykazujące występowanie bakterii rozkładających mikrocystyny w mikrobiocie makrofitów. Nie można jednocześnie wykluczyć udziału glonów w obserwowanym procesie biodegradacji mikrocystyn, który w naturze może obejmować współistniejące organizmy (np. glony-bakterie lub protisty-bakterie) (Li i in. 2017). Sugerowano również możliwą rolę grzybów w degradacji mikrocystyn (i Quer i in. 2024 i prace cytowane). Zagadnienie biodegradacji mikrocystyn przez makrofity przedyskutowałam w pracy Toporowska (2022, Publ. 3). Brak detekcji toksyn oraz ich produktów degradacji w eksponowanej *S. polyrhiza*, a także potwierdzenie procesu biodegradacji mikrocystyn przez mikrobiotę w warunkach niezależnych od obecności spirodeli w drugim eksperymencie (Toporowska i in. 2022, Publ. 4), wskazują, że to mikrobiota była głównym czynnikiem odpowiedzialnym za degradację toksyn.**

Sekwencjonowanie metagenomowe mikrobiomu wykazało obecność sekwencji podobnych do klasteru genów kodującego enzym MlrA (mikrocystynazę) w genomie *Methylophilus* sp., S-transferazy glutationowe kodowane przez genom *Pseudomonas* spp. i *Methylophilus methylophilus* oraz proteazy MlrC rozrywające wiązania peptydowe kodowane przez genom *Pseudomonas* spp. Mimo wykrycia genomu kodującego

S-transferazy glutationowe, nie stwierdzono produktów biodegradacji mikrocystyn z glutationem. Mechanizm biodegradacji mikrocystyn przez mikrobiotę *S. polyrhiza* obserwowany w przeprowadzonych badaniach pozostaje nieznany. Jednakże pewne przesłanki takie jak obecność w analizowanym metagenomie sekwencji kodujących domniemane białka podobne do MlrA, wykrycie liniowych heptapeptydów jako produktów biodegradacji oraz zaobserwowana oporność wariantu MC-LF na biodegradację, pozwalają wnioskować, że:

- 1) linearyzacja cyklicznych cząsteczek MC-LR i MC-RR skutkująca utworzeniem liniowych heptapeptydów była prawdopodobnie spowodowana aktywnością enzymatyczną związaną z białkiem o bardzo niskim podobieństwie do znanej mikrocystynazy.
- 2) domniemany enzym musi być bardziej specyficzny niż znany już MlrA, który jest zdolny do hydrolizy różnych wariantów mikrocystyn, w tym również bardziej hydrofobowych MC-LW i MC-LF.

4.3.4. Podsumowanie najważniejszych wyników badań opublikowanych w artykułach stanowiących osiągnięcie naukowe

W ramach prac składających się na prezentowane osiągnięcie naukowe podjęłam szereg nowatorskich zagadnień badawczych, które dotychczas nie były przedmiotem szczegółowych analiz lub pozostają słabo rozpoznane w literaturze naukowej. Uzyskane wyniki pozwoliły mi wykazać, że:

1. liza komórek *Planktothrix agardhii* skutkuje uwolnieniem do środowiska wodnego związków, które mogą stymulować masowy rozwój tej sinicy oraz powodować wzrost zawartości chlorofilu-a i mikrocystyn w jej biomasie. Mikrocystyny, obecne w ekstraktach w różnym składzie i stężeniach, nie wpłynęły negatywnie na obserwowany wzrost biomasy *P. agardhii* ani zawartość chlorofilu-a. Natomiast znaczne różnice w składzie oligopeptydowym ekstraktów oraz wysokie stężenia związków biogennych sugerują, że to właśnie substancje odżywcze, a nie same oligopeptydy, stanowią główny czynnik stymulujący wzrost sinic;
2. nie zaobserwowano dowodów na bioakumulację rozpuszczonych oligopeptydów w komórkach *P. agardhii* eksponowanych na ekstrakty zawierające te metabolity. Natomiast zróżnicowanie profilu oligopeptydowego u *P. agardhii* w odpowiedzi na

ekspozycję na dwa różne ekstrakty sugeruje, że mieszaniny metabolitów sinic o różnorodnym składzie oligopeptydów i zawartości związków odżywczych, uwalniane w środowisku naturalnym, mogą wpływać na rozwój i dominację określonych chemotypów. Wydaje się, że zmiany w liczebności poszczególnych chemotypów w populacjach sinic mogą zachodzić szybko, stanowiąc odpowiedź na rozpuszczone metabolity sinicowe;

3. skład jakościowy i ilościowy oligopeptydów syntetyzowanych przez różne szczepy/chemotypy *P. agardhii* stanowi istotny czynnik ograniczający rozwój makrofitu *Spirodela polyrhiza* oraz obniżający zawartość chlorofilu-a w tkankach roślin. Wyniki sugerują, że w toksycznym oddziaływaniu sinic na makrofity większą rolę odgrywają oligopeptydy inne niż mikrocystyny;
4. struktura mikrobioty *S. polyrhiza*, obejmująca bakterie i mikroglony, a także potencjalna toksyczność mikrocystyn wobec poszczególnych grup mikroorganizmów, może zależeć od obecności rośliny gospodarza, dostępności składników odżywczych oraz efektywności procesów degradacji mikrocystyn. W celu pełniejszego zrozumienia tych zależności konieczne są dalsze, szczegółowe badania;
5. po ekspozycji na MC-RR, MC-LR i MC-LF konsorcja bakteryjne makrofitu *S. polyrhiza* charakteryzują się wysoką bioróżnorodnością oraz nie wykazują większych istotnych statystycznie różnic na poziomie typu i rodzaju. Niemniej, mogą być obserwowane pewne specyficzne różnice na poziomie różnorodności alfa i beta, sugerujące większą odporność dominującego typu Proteobacteria, w szczególności przedstawicieli rodzaju *Methylophilus*, na MC-LR;
6. mikrobiota *S. polyrhiza* posiada potencjał do syntezy enzymów odpowiedzialnych za biodegradację hydrofilowych wariantów mikrocystyn (MC-RR i MC-LR), przy braku takiej zdolności względem hydrofobowego wariantu MC-LF. Enzymy te są syntetyzowane przez przedstawicieli z rodzajów *Methylophilus* i *Pseudomonas*, znanych nauce z aktywności degradacyjnej wobec mikrocystyn;
7. szlaki metaboliczne biodegradacji MC-RR i MC-LR różnią się, co sugeruje udział specyficznych enzymów w rozkładzie poszczególnych wariantów mikrocystyn. W początkowej fazie degradacji może uczestniczyć enzym o aktywności zbliżonej do MlrA – najczęściej opisywanego enzymu bakteryjnego odpowiadającego za linearyzację cyklicznej struktury mikrocystyn;
8. w warunkach naturalnych makrofity mogą być częściowo chronione przed toksycznym działaniem mikrocystyn, w tym przed ich bioakumulacją, dzięki obecności mikrobioty

- w szczególności bakteryjnych konsorcjów zdolnych do degradacji mikrocystyn do form liniowych o obniżonej, w porównaniu z cyklicznymi cząsteczkami, toksyczności.

Uważam, że uzyskane wyniki oraz sformułowane na ich podstawie wnioski stanowią istotny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne, ze szczególnym uwzględnieniem zagadnień związanych z rolą i toksycznością mieszanin oligopeptydów sinicowych, biologią, ekologią i ekotoksycznością sinicy *Planktothrix agardhii* oraz biodegradacją jednych z najczęściej występujących w środowisku wariantów mikrocystyn. Przedstawione wyniki dostarczają nowej, oryginalnej wiedzy, poszerzającej dotychczasowy stan badań w obszarze ekologii wód i ekotoksykologii. Jednocześnie stanowią one istotną podstawę do dalszych badań nad interakcjami i mechanizmami odporności hydrobiontów na mikrocystyny oraz nad ochronną rolą mikrobioty makrofitów w ekosystemach narażonych na zakwity sinic. Kontynuacja prowadzonych badań może również przynieść istotne korzyści aplikacyjne, wspierając rozwój biologicznych metod oczyszczania wód (bioremediacji) z wykorzystaniem makrofitów i ich mikrobioty.

4.3.5. Literatura

- Agha R, Quesada A, 2014. Oligopeptides as biomarkers of cyanobacterial subpopulations. Toward an understanding of their biological role. *Toxins*, 6(6): 1929–1950. <https://doi.org/10.3390/toxins6061929>
- Alamri SA, 2012. Biodegradation of microcystin-RR by *Bacillus flexus* isolated from a Saudi freshwater lake. *Saudi J. Biol. Sci.*, 19(4): 435–440. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.06.006>
- Benegas GRS, Bernal SPF, de Oliveira VM, Passarini MRZ, 2021. Antimicrobial activity against *Microcystis aeruginosa* and degradation of microcystin-LR by bacteria isolated from Antarctica. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 28 (37), 52381–52391. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14458-5>.
- Bouaïcha N, Miles CO, Beach DG, Labidi Z, Djabri A, Benayache NY, Nguyen-Quang T, 2019. Structural diversity, characterization and toxicology of microcystins. *Toxins*, 11(12): 714. <https://doi.org/10.3390/toxins11120714>
- Bourne DG, Jones GJ, Blakeley RL, Jones A, Negri AP, Riddles P, 1996. Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 4086–4094. <https://doi.org/10.1128/aem.62.11.4086-4094.1996>.
- Briand J-F, Jacquet S, Flinois C, Avois-Jacquet C, Maisonnnette C, Leberre B, Humbert J-F, 2005. Variations in the microcystin production of *Planktothrix rubescens* (Cyanobacteria) assessed from a four-year survey of Lac du Bourget (France) and from laboratory experiments. *Microb. Ecol.*, 50: 418–428. [10.1007/s00248-005-0186-z](https://doi.org/10.1007/s00248-005-0186-z)
- Bubik A, Frangež R, Žužek MC, Gutiérrez-Aguirre I, Lah TT, Sedmak B, 2024. Cyanobacterial cyclic peptides can disrupt cytoskeleton organization in human astrocytes—A contribution to the understanding of the systemic toxicity of cyanotoxins. *Toxins*, 16(9): 374. <https://doi.org/10.3390/toxins16090374>

- Chorus I, Welker M, eds. 2021. Toxic Cyanobacteria in Water, a guide to their public health consequences, monitoring and management 2nd edition. CRC Press, Boca Raton on behalf of the World Health Organization, Geneva, CH 858 str.
- Codd G, Bell S, Kaya K, Ward C, Beattie K, Metcalf J, 1999. Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health. Eur. J. Phycol., 34(4): 405–415. <https://doi.org/10.1080/09670269910001736462>
- Dziga D, Wasylewski M, Szetela A, Bocheńska O, Władyka B, 2012. Verification of the role of MlrC in microcystin biodegradation by studies using a heterologously expressed enzyme. Chem. Res. Toxicol., 25(6): 1192–1194. [dx.doi.org/10.1021/tx300174e](https://doi.org/10.1021/tx300174e)
- Dziga D, Wasylewski M, Władyka B, Nybom S, Meriluoto J, 2013. Microbial degradation of microcystins. Chem. Res. Toxicol., 26(6): 841–852. <https://doi.org/10.1021/tx4000045>
- Edwards C, Graham D, Fowler N, Lawton LA, 2008. Biodegradation of microcystins and nodularin in freshwaters. Chemosphere, 73(8): 1315–1321. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.07.015>
- Entfellner E, Baumann KB, Edwards C, Kurmayer R, 2023. High structural diversity of aeruginosins in bloom-forming cyanobacteria of the genus *Planktothrix* as a consequence of multiple recombination events. Mar. Drugs, 21(12): 638. <https://doi.org/10.3390/md21120638>
- Eybe T, Audinot JN, Bohn T, Guignard C, Migeon HN, Hoffmann L, 2008. NanoSIMS 50 elucidation of the natural element composition in structures of cyanobacteria and their exposure to halogen compounds. J. Appl. Microbiol., 105: 1502–1510. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03932.x>
- Ferencz B, Toporowska M, Dawidek J, 2023. Role of hydrology in cyanobacterial blooms in the floodplain lakes. Water, 15(8): 1547. <https://doi.org/10.3390/w15081547>
- Fischer A, Hoeger SJ, Stemmer K, Feurstein DJ, Knobloch D, Nussler A, Dietrich DR, 2010. The role of organic anion transporting polypeptides (OATPs/SLCOs) in the toxicity of different microcystin congeners *in vitro*: A comparison of primary human hepatocytes and OATP-transfected HEK293 cells. Toxicol. Appl. Pharmacol., 245: 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.02.003>
- Fontanillo M, Kohn M, 2018. Microcystins: synthesis and structure–activity relationship studies toward PP1 and PP2A. Bioorg. Med. Chem., 26(6): 1118–1126. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.09.041>
- Grabowska M, Kobos J, Toruńska-Sitarz A, Mazur-Marzec H, 2014. Non-ribosomal peptides produced by *Planktothrix agardhii* from Siemianówka Dam Reservoir SDR (northeast Poland). Arch. Microbiol., 196: 697–707. <https://doi.org/10.1007/s00203-014-1011-y>
- Harms H, Kurita KL, Pan L, Wahome PG, He H, Kinghorn AD, Carter GT, Linington RG, 2016. Discovery of anabaenopeptin 679 from freshwater algal bloom material: insights into the structure-activity relationship of anabaenopeptin protease inhibitors. Bioorg. Med. Chem. Lett., 26: 4960–4965. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.09.008>
- Hentschke GS, Junior WAG, 2022. Trends in cyanobacteria: a contribution to systematics and biodiversity studies. In: The Pharmacological Potential of Cyanobacteria. Academic Press, pp. 1–20.
- Hu C, Rzymiski P, 2019. Programmed cell death-like and accompanying release of microcystin in freshwater bloom-forming cyanobacterium *Microcystis*: from identification to ecological relevance. Toxins, 11(12): 706. <https://doi.org/10.3390/toxins11120706>
- Humpage AR, Cunliffe DA, 2021. Understanding exposure: drinking-water. In: Chorus I, Welker M, eds. Toxic Cyanobacteria in Water, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton (FL), on behalf of the World Health Organization, Geneva, CH.

- i Quer AM, Larsson Y, Johansen A, Arias CA, Carvalho PN, 2024. Cyanobacterial blooms in surface waters—nature-based solutions, cyanotoxins and their biotransformation products. *Water Res.*, 121122. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.121122>
- Inoue D, Hiroshima N, Ishizawa H, Ike M, 2022. Whole structures, core taxa, and functional properties of duckweed microbiomes. *Bioresour. Technol. Rep.*, 18: 101060. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101060>
- Isobe T, Okuhata H, Miyasaka H, Jeon BS, Park HD, 2014. Detoxification of microcystin-LR in water by *Portulaca oleracea* cv. J. *Biosci. Bioeng.*, 117: 330–332. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.08.003>
- Iwashita T, Tanaka Y, Tamaki H, Yoneda Y, Makino A, Tateno Y, Mori K, 2020. Comparative analysis of microbial communities in fronds and roots of three duckweed species: *Spirodela polyrhiza*, *Lemna minor*, and *Lemna aequinoctialis*. *Microbes Environ.*, 35(3): ME20081. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME20081>
- Janssen EML, 2019. Cyanobacterial peptides beyond microcystins—A review on co-occurrence, toxicity, and challenges for risk assessment. *Water Res.*, 151: 488–499. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.12.048>
- Jones GJ, Orr PT, 1994. Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *Microcystis aeruginosa* bloom in a recreational lake, as determined by HPLC and protein phosphatase inhibition assay. *Water Res.*, 28: 871–876. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90097-3](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90097-3)
- Jones MR, Pinto E, Torres MA, Dörr F, Mazur-Marzec H, Szubert K, Janssen EML, 2021. CyanoMetDB, a comprehensive public database of secondary metabolites from cyanobacteria. *Water Res.*, 196: 117017. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117017>
- Kim IS, 2004. Microbial colonization of the aquatic duckweed, *Spirodela polyrhiza*, during development. *Appl. Microsc.*, 34(2): 103–111.
- Kosol S, Schmidt J, Kurmayer R, 2009. Variation in peptide net production and growth among strains of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. *Eur. J. Phycol.*, 44(1): 49–62. <https://doi.org/10.1080/09670260802158659>
- Kurmayer R, Deng L, Entfellner E, 2016. Role of toxic and bioactive secondary metabolites in colonization and bloom formation by filamentous cyanobacteria *Planktothrix*. *Harmful Algae*, 54: 69–86. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.01.004>
- Kurmayer R, Schober E, Tonk L, Visser PM, Christiansen G, 2011. Spatial divergence in the proportions of the genes encoding toxic peptides synthesis among populations of the cyanobacterium *Planktothrix* in European lakes. *FEMS Microbiol. Lett.*, 317: 127–137. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02222.x>
- Li J, Li R, Li J, 2017. Current research scenario for microcystins biodegradation – a review on fundamental knowledge, application prospects and challenges. *Sci. Total Environ.*, 595: 615–632. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.285>
- Li J, Shi G, Mei Z, Wang R, Li D, 2016. Discerning biodegradation and adsorption of microcystin-LR in a shallow semi-enclosed bay and bacterial community shifts in response to associated processes. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 132: 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.05.033>
- Manage PM, Edwards C, Singh BK, Lawton LA, 2009. Isolation and identification of novel microcystin-degrading bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75: 6924–6928. <https://doi.org/10.1128/AEM.01928-09>
- Mantzouki E, Lüring M, Fastner J, de Senerpont Domis L, Wilk-Woźniak E, Koreivienė J, Toporowska M, Pawlik-Skowrońska B, Niedźwiecki M, Pęczyła W, Ibelings BW, 2018. Temperature effects explain continental scale distribution of cyanobacterial toxins. *Toxins*, 10(4): 156. <https://doi.org/10.3390/toxins10040156>
- Martins JC, Vasconcelos VM, 2009. Microcystin dynamics in aquatic organisms. *J. Toxicol. Environ. Health B*, 12(1): 65–82. <https://doi.org/10.1080/10937400802545151>
- Massey IY, Yang F, 2020. A mini review on microcystins and bacterial degradation. *Toxins*, 12(4): 268. <https://doi.org/10.3390/toxins12040268>

- Máthé C, M-Hamvas M, Vasas G, 2013. Microcystin-LR and cylindrospermopsin induced alterations in chromatin organization of plant cells. *Mar. Drugs*, 11(10): 3689–3717. <https://doi.org/10.3390/md11103689>
- Matsuzawa H, Tanaka Y, Tamaki H, Kamagata Y, Mori K, 2009. Culture-dependent and independent analyses of the microbial communities inhabiting the giant duckweed (*Spirodela polyrhiza*) rhizoplane and isolation of a variety of rarely cultivated organisms within the phylum Verrucomicrobia. *Microbes Environ.*, 25(4): 302–308. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME10144>
- Mazur-Marzec H, Błaszczuk A, Felczykowska A, Wohlfeld N, Kobos J, Toruńska-Sitarz A, Devi P, Montalvao S, D'souza L, Tammela P, Mikosik A, Bloch S, Nejman-Faleńczyk B, Węgrzyn G, 2015. Baltic cyanobacteria – a source of biologically active compounds. *Eur. J. Phycol.*, 50: 343–360. <https://doi.org/10.1080/09670262.2015.1062563>
- Meriluoto JL, Spoof L, Codd G, 2017. *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*. Wiley, Hoboken, NJ, USA.
- Mitrovic SM, Allis O, Furey A, James KJ, 2005. Bioaccumulation and harmful effects of microcystin-LR in the aquatic plants *Lemna minor* and *Wolffia arrhiza* and the filamentous alga *Cladophora fracta*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 61: 345–352. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.11.003>
- Mou X, Lu X, Jacob J, Sun S, Heath R, 2013. Metagenomic identification of bacterioplankton taxa and pathways involved in microcystin degradation in Lake Erie. *PLoS One*, 8(4): e61890. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061890>
- Namikoshi M, Rinehart KL, 1996. Bioactive compounds produced by cyanobacteria. *J. Industr. Microbiol.* 17: 373–384.
- Nasri AB, Bouaïcha N, Fastner J, 2004. First report of a microcystin-containing bloom of the cyanobacteria *Microcystis* spp. in Lake Oubeira, Eastern Algeria. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 46: 197–202. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-2283-7>
- Nishiwaki-Matsushima R, Nishiwaki S, Ohta T, Yoshizawa S, Suganuma M, Harada KI, Fujiki H, 1991. Structure–function relationships of microcystins, liver tumor promoters, in interaction with protein phosphatase. *Jpn. J. Cancer Res.*, 82(9): 993–996. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.1991.tb01933.x>
- Oliver RL, Ganf GG, 2000. Freshwater blooms. In: Whitton BA, Potts M (eds). *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. Springer, Dordrecht, str. 149–194.
- Omidi A, Pflugmacher S, Kaplan A, Kim YJ, Esterhuizen M, 2021. Reviewing interspecies interactions as a driving force affecting the community structure in lakes via cyanotoxins. *Microorganisms*, 9: 1583. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081583>
- Paerl HW, Huisman J, 2008. Blooms like it hot. *Science*, 320(5872): 57–58. <https://doi.org/10.1126/science.1155398>
- Pawlik-Skowrońska B, Bownik A, Pogorzelec M, Kulczycka J, Sumińska A, 2023. First report on adverse effects of cyanobacterial anabaenopeptins, aeruginosins, microginin and their mixtures with microcystin and cylindrospermopsin on aquatic plant physiology: An experimental approach. *Toxicon*, 236: 107333. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107333>
- Pawlik-Skowrońska B, Toporowska M, Mazur-Marzec H, 2019. Effects of secondary metabolites produced by different cyanobacterial populations on the freshwater zooplankters *Brachionus calyciflorus* and *Daphnia pulex*. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 26(12): 11793–11804. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04543-1>
- Pflugmacher S, 2004. Promotion of oxidative stress in the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* during biotransformation of the cyanobacterial toxin microcystin-LR. *Aquat. Toxicol.*, 70(3): 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.06.010>

- Pham TL, Utsumi M, 2018. An overview of the accumulation of microcystins in aquatic ecosystems. *J. Environ. Manag.*, 213: 520–529. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.077>
- Qin B, Zhu G, Gao G, Zhang Y, Li W, Paerl HW, Carmichael WW, 2010. A drinking water crisis in Lake Taihu, China: Linkage to climatic variability and lake management. *Environ. Manag.*, 45: 105–112. <https://doi.org/10.1007/s00267-009-9393-6>
- Reynolds CS, Huszar V, Kruk C, Naselli-Flores L, Melo S, 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *J. Plankton Res.*, 24(5): 417–428. <https://doi.org/10.1093/plankt/24.5.417>
- Rohrback T, Christiansen G, Kurmayer R, 2013. Putative antiparasite defensive system involving ribosomal and non-ribosomal oligopeptides in cyanobacteria of the genus *Planktothrix*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 79: 2642–2647. <https://doi.org/10.1128/AEM.03499-12>
- Rohrback T, Edvardsen B, Skulberg R, Halstvedt CB, Utkilen HC, Ptacnik R, Skulberg OM, 2008. Oligopeptide chemotypes of the toxic freshwater cyanobacterium *Planktothrix* can form subpopulations with dissimilar ecological traits. *Limnol. Oceanogr.*, 53(4): 1279–1293. <https://doi.org/10.4319/lo.2008.53.4.1279>
- Rohrback T, Skulberg R, Skulberg OM, 2009. Distribution of oligopeptide chemotypes of the cyanobacterium *Planktothrix* and their persistence in selected lakes in Fennoscandia. *J. Phycol.*, 45: 1259–1265. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00757.x>
- Romanowska-Duda Z, Mańkiewicz J, Tarczyńska M, Walter Z, Zalewski M, 2002. The effects of toxic cyanobacteria (blue-green algae) on water plants and animal cells. *Pol. J. Environ. Stud.*, 11: 561–565.
- Santos AA, Keim CN, Magalhães VF, Pacheco ABF, 2022. Microcystin drives the composition of small-sized bacterioplankton communities from a coastal lagoon. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 29 (22), 33411–33426. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-18613-4>
- Saqrane S, Ghazali IE, Ouahid Y, Hassni ME, Hadrami IE, Bouarab L, del Campo FF, Oudra B, Vasconcelos V. 2007. Phytotoxic effects of cyanobacteria extract on the aquatic plant *Lemna gibba*: microcystin accumulation, detoxification and oxidative stress induction. *Aquatic Toxicol.*, 83: 284–294. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.05.004>
- Schatz D, Keren Y, Vardi A, Sukenik A, Carmeli S, Boerner T, Dittmann E, Kaplan A, 2007. Towards clarification of the biological role of microcystins, a family of cyanobacterial toxins. *Environ. Microbiol.*, 9: 965–970. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01218.x>
- Scherer PI, Raeder U, Geist J, Zwirgmaier K, 2017. Influence of temperature, mixing, and addition of microcystin-LR on microcystin gene expression in *Microcystis aeruginosa*. *Microbiol. Open*, 6: e00393. <https://doi.org/10.1002/mbo3.393>
- Sivonen K, Börner T, 2008. Bioactive compounds produced by cyanobacteria. In: Herrero A, Flores E (Eds.), *The Cyanobacteria*. Caister Academic Press, Norfolk, UK, s. 159–197.
- Sivonen K, Jones G, 1999. Cyanobacterial toxins. In: Chorus I, Bartram J (Eds.), *Toxic Cyanobacteria in Water. A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. E & FN Spon, London, UK, pp. 41–111.
- Steiner K, Wood SA, Puddick J, Hawes I, Dietrich DR, Hamilton DPA, 2017. A comparison of bacterial community structure, activity and microcystins associated with formation and breakdown of a cyanobacterial scum. *Aquat. Microb. Ecol.*, 80: 243–256. <https://doi.org/10.3354/ame01852>
- Svirčev Z, Lalić D, Bojadžija Savić G, Tokodi N, Drobac Backović D, Chen L, Codd GA, 2019. Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. *Arch. Toxicol.*, 93: 2429–2481. <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02524-4>

- Tarkowska-Kukuryk M, Mieczan T, 2017. Submerged macrophytes as bioindicators of environmental conditions in shallow lakes in eastern Poland. *Ann. Limnol. - Int. J. Limn.*, 53: 27–34. <https://doi.org/10.1051/limn/2016031>
- Tonk L, Visser P, Christiansen G, Dittmann E, Sneldfer E, Wiedner C, Mur L, Huisman J, 2005. The microcystin composition of the cyanobacterium *Planktothrix agardhii* changes toward a more toxic variant with increasing light intensity. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 5177–5181. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.5177-5181.2005>
- Toporowska M, Ferencz B, Dawidek J, 2018. Impact of lake-catchment processes on phytoplankton community structure in temperate shallow lakes. *Ecohydrology*, 11(8): e2017. <https://doi.org/10.1002/eco.2017>
- Toporowska M, Pawlik-Skowrońska B, Kalinowska R, 2014. Accumulation and effects of cyanobacterial microcystins and anatoxin-a on benthic larvae of *Chironomus* spp. (Diptera: Chironomidae). *Eur. J. Entomol.*, 111(1): 83–90. <https://doi.org/10.14411/eje.2014.010>
- Toporowska M, Pawlik-Skowrońska B, Kalinowska R, 2016. Mass development of diazotrophic cyanobacteria (Nostocales) and production of neurotoxic anatoxin-a in a *Planktothrix* (Oscillatoriales) dominated temperate lake. *Water Air Soil Pollut.*, 227: 321. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3004-y>
- Vestervik PSM, Misiorek JO, Spoof LEM, Toivola DM, Meriluoto JAO, 2012. Comparative cellular toxicity of hydrophilic and hydrophobic microcystins on Caco-2 cells. *Toxins*, 4: 1008–1023. <https://doi.org/10.3390/toxins4111008>
- Wagner RS, Neudeck MJ, Heath AE, Barker KB, Brown KM, Buchholz S, Bullerjahn GS, 2024. The recent disappearance of a persistent *Planktothrix* bloom: characterization of a regime shift in the phytoplankton of Sandusky Bay (USA). *Harmful Algae*, 123: 102656. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2024.102656>
- Wang J, Wu P, Chen J, Yan H, 2010. Biodegradation of microcystin-RR by a new isolated *Sphingopyxis* sp. USTB-05. *Chin. J. Chem. Eng.*, 18: 108–112. [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(08\)60330-4](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(08)60330-4)
- Ward CJ, Codd GA, 1999. Comparative toxicity of four microcystins of different hydrophobicities to the protozoan, *Tetrahymena pyriformis*. *J. Appl. Microbiol.*, 86(5): 874–882. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00771.x>
- Wei N, Hu C, Dittmann E, Song L, Gan N, 2024. The biological functions of microcystins. *Water Res.*, 254: 122119. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.122119>
- Weiss J, Liebert HP, Brune W, 2000. Influence of microcystin-RR on growth and photosynthetic capacity of the duckweed *Lemna minor* L. *J. Appl. Bot.*, 74: 100–105.
- Welker M, von Döhren H, 2006. Cyanobacterial peptides – nature's own combinatorial biosynthesis. *FEMS Microbiol. Rev.*, 30: 530–563. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2006.00022.x>
- Wiegand C, Peuthert A, Pflugmacher S, Carmeli S, 2002. Effects of microcin SF608 and microcystin-LR, two cyanobacterial compounds produced by *Microcystis* sp. on aquatic organisms. *Environ. Toxicol.*, 17: 400–406. <https://doi.org/10.1002/tox.10065>
- Yang F, Zhou Y, Sun R, Wei H, Li Y, Yin L, Pu Y, 2014. Biodegradation of microcystin-LR and -RR by a novel microcystin-degrading bacterium isolated from Lake Taihu. *Biodegradation*, 25: 447–457. <https://doi.org/10.1007/s10532-013-9673-y>
- Zervou SK, Kaloudis T, Gkelis S, Hiskia A, Mazur-Marzec H, 2021. Anabaenopeptins from cyanobacteria in freshwater bodies of Greece. *Toxins*, 14(1): 4. <https://doi.org/10.3390/toxins14010004>
- Zhang M, Pan G, Yan H, 2010. Microbial biodegradation of microcystin-RR by bacterium *Sphingopyxis* sp. USTB-05. *J. Environ. Sci.*, 22: 168–175. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(09\)60089-9](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60089-9)
- Zhu HZ, Jiang MZ, Zhou N, Jiang CY, Liu SJ, 2021. Submerged macrophytes recruit unique microbial communities and drive functional zonation in an aquatic system. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 105: 7517–7528. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11565-8>

5. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ.

I. Okres przed uzyskaniem stopnia doktora

- 1) 2006 – 2015: Stacja Badawcza Centrum Badań Ekologicznych Polskiej Akademii Nauk w Lublinie
- 2) 2007: Zakład Fykologii, Instytut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk, Kraków
- 3) 2007: Zakład Ochrony Wód im. Karola Starmacha, Instytut Ochrony Przyrody, Polska Akademia Nauk, Kraków

W latach 2005–2010 odbyłam studia doktoranckie w ówczesnej Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie). **W ich ramach, pod kierunkiem prof. dr hab. Barbary Pawlik-Skowrońskiej, odbyłam dwa jednomiesięczne staże naukowe w Stacji Badawczej Centrum Badań Ekologicznych Polskiej Akademii Nauk w Lublinie (we wrześniu 2006 roku oraz w sierpniu 2008 roku).** Podczas stażu w 2006 roku zajmowałam się metodami oznaczania toksyn sinicowych, mikrocystyn i anatoksyny-a, w biomasie fitoplanktonu oraz wodzie jeziornej. Moje badania obejmowały przygotowanie materiału biologicznego do analiz cyjanotoksyn oraz zastosowanie technik GC/MS i HPLC-FLD w ich oznaczaniu. Staż, który odbyłam w 2008 roku obejmował metody oznaczania toksyn sinicowych (mikrocystyn i anatoksyny-a) w biomasie fitoplanktonu, wodzie jeziornej i tkankach ryb, przygotowywanie materiału biologicznego do oznaczeń cyjanotoksyn, oraz przeprowadzanie analiz technikami HPLC-FLD i HPLC-PDA. Wiedza i wyniki badań uzyskane podczas obu staży stanowiły duży wkład w moją dysertację doktorską oraz pozwoliły mi na dalszy (po uzyskaniu stopnia doktora) rozwój naukowy i prowadzenie wielu badań w wyżej opisanym zakresie. Moja aktywność naukowa w okresie przed uzyskaniem stopnia doktora zaowocowała również kilkoma oryginalnymi publikacjami naukowymi (Wiśniewska i in. 2007 - **C1**, Toporowska i in. 2008 - **C2**, Toporowska i in. 2010 - **B1**, Pawlik-Skowrońska i Toporowska 2011 - **B2**, Toporowska i Pawlik-Skowrońska 2011 - **C3**) oraz umożliwiła mi udział w czterech projektach badawczo-usługowych prowadzonych w latach 2014-2017 na zlecenie Urzędu Miasta w Lublinie, realizowanych najpierw w Stacji Badawczej Centrum Badań Ekologicznych PAN w Lublinie, a następnie w Katedrze Hydrobiologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (obecnie Katedrze Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów).

W lutym 2007 roku odbyłam pod kierunkiem **dr Agaty Wojtal z Zakładu Fykologii Instytutu Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk w Krakowie** pięciodniowy staż naukowy z zakresu metod analiz epifitycznych i planktonowych okrzemek. W marcu 2007 roku odbyłam trzydniowe konsultacje w tym samym zakresie u **dr hab. Janiny Kwadrans (Lee) w Zakładzie Ochrony Wód im. Karola Starmacha Instytutu Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk**. Zdobyta wiedza i umiejętności umożliwiły mi m.in. na udział w kilku projektach, w tym z zakresu monitoringu środowiska w oparciu o fitobentos, realizowanych już w okresie po uzyskaniu stopnia doktora.

W latach 2008 – 2010 byłam głównym wykonawcą w projekcie finansowanym ze środków M.N.iSz.W. (nr 304120235) przyznany prof. dr hab. Barbarze Pawlik-Skowrońskiej („Dynamika produkcji cyjanotoksyn oraz ich akumulacja i wpływ na wybranych przedstawicieli zoohydrobiontów w hipertroficznym jeziorze”), realizowanym w Stacji Badawczej Centrum Badań Ekologicznych PAN w Lublinie oraz Katedrze Hydrobiologii UP w Lublinie. W październiku 2009 roku zostałam zatrudniona w Katedrze Hydrobiologii UP w Lublinie na stanowisku starszego technika.

W pierwszych latach pracy naukowej moje zainteresowania skupiały się na badaniu rozwoju fitoplanktonu, w tym sinic, szczególnie nitkowatego gatunku *Planktothrix agardhii*, produkcji cyjanotoksyn w zeutrofizowanych zbiornikach wodnych i ich wpływie na hydrobionty, a także na badaniach fitoperyfitonu. Prowadzone badania i odbyte staże naukowe zaowocowały opublikowaniem przed uzyskaniem stopnia doktora dwóch prac posiadających IF. Publikacje te dotyczyły analizy rozwoju zakwitów wód wywołanych przez glony i sinice w sezonie zimowym i letnim w hipertroficznym Jeziorze Syczyńskim (Toporowska i in. 2010 - B1) oraz dwóch sztucznych zbiornikach wodnych na początku ich funkcjonowania (Pawlik-Skowrońska i Toporowska 2011 - B2). W okresie tym ukazały się również trzy recenzowane publikacje opublikowane w czasopismach nieposiadających IF. Dotyczyły one rozwoju sinicy *P. agardhii* i innych potencjalnie toksycznych taksonów sinic i glonów w Jeziorze Syczyńskim (Wiśniewska i in. 2007 - C1), rozwoju epifitycznych glonów na czterech rodzajach zanurzonych makrofitów występujących w makrofitowym jeziorze Skomielno (Toporowska i in. 2008 - C2) oraz struktury jakościowej fitoplanktonu wspomnianego Jeziora Syczyńskiego obciążonego zakwitami (Toporowska i Pawlik-Skowrońska 2011 - C3).

II. Okres po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora swoją działalność naukowo-badawczą realizowałam na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (obecnie

Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki), a od 2019 roku na (wyodrębnionym z WBiHZ) Wydziale Biologii Środowiskowej UP w Lublinie, uczestnicząc w projektach badawczych, badawczo-usługowych oraz prowadząc własne badania, w tym doświadczenia ekotoksykologiczne. Uczestniczyłam również w badaniach prowadzonych poza macierzystą Uczelnią, poprzez bezpośredni udział w projektach i/lub stażach realizowanych w polskich jak i zagranicznych ośrodkach naukowych.

Ośrodki zagraniczne:

- 1) 2014: Istituto per lo Studio degli Ecosistemi (CNR) (The Institute of Ecosystem Study, Italian National Research Council) Verbania, Pallanza, Włochy
- 2) 2015 – 2016: Department F.-A. Forel for Environmental and Aquatic Sciences, University of Geneva, Genewa, Szwajcaria
- 3) 2016: Institute of Botany, Nature Research Centre (NRC), State Research Institute, Wilno, Litwa
- 4) 2022: Faculty of Science, Palacký University Olomouc (Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci), Ołomuniec, Republika Czeska
- 5) 2016, 2023 – obecnie: Laboratory of Algology and Microbial Ecology, Nature Research Centre (NRC), State Research Institute, (Valstybinis Mokslinių Tyrimų Institutas, Gamtos Tyrimo Centras, GTC), Wilno, Litwa

Ośrodki polskie:

- 6) 2006 – 2015: Stacja Badawcza Centrum Badań Ekologicznych Polskiej Akademii Nauk w Lublinie
- 7) 2012 – obecnie: Katedra Biologii Morskiej i Biotechnologii, Wydział Oceanografii i Geografii, Uniwersytet Gdański
- 8) 2014 – obecnie: Zakład Hydrologii (obecnie Katedra Hydrologii i Klimatologii) Instytut Nauk o Ziemi i Środowisku, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
- 9) 2015-2016 oraz 2023 – obecnie: Pracownia Metabolomiki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków
- 10) 2018: Zakład Ochrony Wód, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
- 11) 2019-2021: Zakład Biologii Wód im. Karola Starmacha, Instytut Ochrony Przyrody PAN w Krakowie

- 12) 2019 – obecnie: Katedra Zoologii Bezkręgowców i Parazytologii, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
- 13) 2023 – obecnie: Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
- 14) 2023 – obecnie: Katedra Zaopatrzenia w Wodę i Usuwania Ścieków, Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Lubelska

Moje zainteresowania badawcze koncentrują się na następujących zagadnieniach:

- A. mechanizmy i konsekwencje zakwitów wód słodkich wywołanych przez toksynotwórcze sinice, ze szczególnym uwzględnieniem oddziaływania metabolitów wtórnych sinic (w tym oligopeptydów innych niż mikrocyistyny) na organizmy wodne**
- B. występowanie oraz rola wybranych gatunków obcych, inwazyjnych i ekspansywnych hydrobiontów**
- C. struktura i dynamika zespołów fitoperyfitonu oraz fitobentosu zbiorników słodkowodnych i torfowisk**
- D. ocena jakości wód powierzchniowych**
- E. bezpieczeństwo stosowania, funkcje oraz wpływ na środowisko wybranych surowców i substancji wykorzystywanych w biokosmetologii.**

- A. Mechanizmy i konsekwencje zakwitów wód słodkich wywołanych przez toksynotwórcze sinice, ze szczególnym uwzględnieniem oddziaływania metabolitów wtórnych sinic (w tym oligopeptydów innych niż mikrocyistyny) na organizmy wodne**

Badania realizowane w ramach współpracy z:

Istituto per lo Studio degli Ecosistemi (CNR) (The Institute of Ecosystem Study, Italian National Research Council) Verbania, Pallanza, Włochy

Department F.-A. Forel for Environmental and Aquatic Sciences, University of Geneva, Genewa, Szwajcaria

Faculty of Science, Palacký University Olomouc (Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci), Olomuniec, Republika Czeska

Laboratory of Algology and Microbial Ecology, Nature Research Centre (NRC), State Research Institute, Wilno, Litwa

Katedra Biologii Morskiej i Biotechnologii, Wydział Oceanografii i Geografii, Uniwersytet Gdański

Katedra Hydrologii i Klimatologii, Instytut Nauk o Ziemi i Środowisku, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Katedra Zaopatrzenia w Wodę i Usuwania Ścieków, Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Lubelska

Pracownia Metabolomiki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Zakład Biologii Wód im. Karola Starmacha, Instytut Ochrony Przyrody PAN w Krakowie

Zakład Ochrony Wód, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych kontynuowałam i rozwijałam badania nad zakwitami wód oraz produkcją toksyn sinicowych w słodkowodnych ekosystemach, koncentrując się na analizie ich przyczyn, produkcji mikrocystyn i anatoksyny-a oraz badaniu oligopeptydów innych niż mikrocystyny. Wyniki, uzyskiwane również w ramach międzynarodowej współpracy, publikowałam w uznanych anglojęzycznych czasopismach posiadających IF (Kobos i in. 2013 – **B4**, Toporowska i Pawlik-Skowrońska 2014 – **B7**, Pawlik-Skowrońska i Toporowska 2016 – **B9**, Toporowska i in. 2016 – **B10**, Mantzouki i in. 2018 – **B16**, Mantzouki i in. 2018 – **B19**, Donis i in. 2021 – **B27**, Wilk-Woźniak i in. 2024 – **B31**). Prowadzone przeze mnie badania i publikowane prace dotyczyły również wpływu toksyn sinicowych na organizmy wodne (Pawlik-Skowrońska i in. 2013 – **B3**, Toporowska i in. 2014 – **B5**, Toporowska i in. 2020 **Publ. 2 (B24)**, Toporowska i in. 2022 – **B29**). Na przykład w pracy Pawlik-Skowrońska i in. (2012 – **B3**) wykazano równoczesną kumulację mikrocystyn i anatoksyny-a w tkankach (mięśniach skrzelach i wątrobie) trzech gatunków ichtiofauny. **Była to pierwsza publikacja na temat akumulacji anatoksyny-a w tkankach pospolitych ryb, rodzimych dla europejskich wód słodkich, stwierdzonej w okresie wieloletnich sinicowych zakwitów wód.** Badania z zakresu zakwitów wód powodowanych przez sinice oraz produkcji metabolitów innych niż mikrocystyny prowadziłam m.in. we współpracy z **dr Justyną Kobos**

oraz prof. dr hab. Hanną Mazur-Marzec z Katedry Biologii Morskiej i Biotechnologii, Wydziału Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego. Badania prowadzone w skali ogólnokrajowej pozwoliły na analizę zjawiska zakwitów oraz produkcji toksyn w Polsce (Kobos i in. 2013 – **B4**) i wykazały, że *Planktothrix agardhii* oraz taksony z rodzajów *Aphanizomenon*, *Microcystis* i *Dolichospermum* dominowały w strukturze zakwitów. Natomiast analiza oligopeptydów innych niż mikrocystyny w biomasach kożuchów sinicowych pozwoliła na identyfikację oligopeptydów produkowanych przez sinice tworzące zakwity wód, w tym przez *P. agardhii* (Pawlik-Skowrońska i in. 2019 – **B21**). Uzyskane wyniki pozwoliły także na analizę wpływu mieszanin metabolitów obecnych w ekstraktach z biomas sinic na przedstawicieli zooplanktonu: wrotków *Brachionus calyciflorus* oraz wioślarek *Daphnia pulex*. **Wnioskowano, że oligopeptydy nierybosomalne, inne niż mikrocystyny, miały istotny wpływ na obserwowaną toksyczność ekstraktów względem badanych organizmów, a ich wpływ na poszczególne gatunki lub populacje może się różnić w zależności od profili metabolitów wtórnych sinic.**

Jako specjalistka z zakresu badań ekotoksykologicznych brałam również udział w międzynarodowym teście interkalibracyjnym koordynowanym przez **Istituto per lo Studio degli Ecosistemi (CNR) Verbania z Pallanza (Włochy)**, dotyczącym mikrobiotestu opartego o *Spirodela polyrhiza*. Test wszedł do sprzedaży z ramienia firmy MicroBioTests Inc. (Mariakerke (Ghent), Belgia) jako Spirodela Duckweed Toxkit i jest obecnie powszechnie używany w badaniach ekotoksykologicznych. Udział w badaniu zainspirował mnie w późniejszym okresie do zainteresowania się *S. polyrhiza* jako gatunkiem modelowym w badaniach ekotoksykologicznych.

Zagadnieniem zakwitów wód tworzonych przez sinice zajmowałam się również **uczestnicząc w międzynarodowym projekcie badawczym „European Multi Lake Survey, summer 2015”** realizowanym w ramach działań CyanoCOST i NETLAKE pod kierunkiem **prof. Basa Ibelingsa oraz mgr Evantii Manztouki z Department F.-A. Forel for Environmental and Aquatic Sciences, University of Geneva**. W projekcie uczestniczyło 27 krajów europejskich, a latem 2015 roku przebadano 369 europejskich jezior i sztucznych zbiorników wodnych. **Jako współkoordynator krajowy projektu** (wraz z dr Justyną Kobos) **wzięłam udział w trzydniowych warsztatach organizowanych w maju 2015 roku przez Uniwersytet Genewski w Evian-les-Bains we Francji. Celem warsztatów było opracowanie metodyki pobierania prób i prowadzenia analiz *in situ*, doboru metod laboratoryjnych analiz wód i materiału biologicznego oraz ustalenie zasad budowania**

krajowych zespołów badawczych. Jako koordynator krajowy projektu, byłam członkiem Komitetu Organizacyjnego "Ogólnopolskich Warsztatów Sinicowych" organizowanych przez Katedrę Hydrobiologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie w dniu 18 czerwca 2015 roku. Warsztaty miały w celu utworzenie polskich zespołów naukowo-badawczych, biorących udział w ogólnoeuropejskim programie „European Multi Lake Survey, summer 2015”. Dzięki udziałowi w zagranicznych i krajowych warsztatach oraz międzynarodowym projekcie badawczym miałam okazję na ścisłą współpracę z szeregiem czołowych hydrobiologów, ekotoksykologów, biochemików i chemików z wiodących ośrodków naukowych w Europie. Współpraca ta zaowocowała ukazaniem się kilku publikacji w uznanych impaktfaktorowych czasopismach (Mantzouki i in. 2015 – C7, Mantzouki i in. 2018 – B16, Mantzouki i in. 2018 – B19, Donis i in. 2021 – B27, Wilk-Woźniak i in. 2024 – B31). Jedną z tych prac (Mantzouki i in. 2018 – B16), wykazującą wiodącą rolę temperatury w dystrybucji zakwitów sinic w skali pan-europejskiej, była cytowana 156 razy (wg Web of Science, Thomson Reuters, 07.04.2025), a w 2021 roku uzyskała nagrodę “Toxins 2020 Best Paper Awards”. Pozostałe prace wykazały m.in. rolę stratyfikacji i klimatu świetlnego w rozwoju biomasy fitoplanktonu w skali europejskiej (Donis i in. 2021 – B27) oraz pozwoliły zebrać dane dotyczące parametrów fizycznych, chemicznych, pigmentów glonowych i sinicowych oraz cyjanotoksyn w wodach Europy (Mantzouki i in. 2015 – C7, Mantzouki i in. 2018 – B19) podczas fali upałów latem 2015 roku. Uzyskane dane pozwoliły również na opisanie zjawiska występowania sinicowych zakwitów wód wzdłuż gradientu podłużnego w Europie Środkowej podczas wspomnianej fali upałów (Wilk-Woźniak i in. 2024 – B31). Analizowano także biomasę sinic, stężenia toksyn sinicowych i związków biogennych. Niniejsza praca była koordynowana przez **dr hab. Elżbietę Wilk-Woźniak prof. IOP PAN z Zakładu Biologii Wód im. Karola Starmacha Instytutu Ochrony Przyrody PAN w Krakowie.**

W 2015 roku podjęłam również współpracę z **dr hab. Dariuszem Dziga prof. uczelni z Pracowni Metabolomiki Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego** dotyczącą zdolności konsorcjów mikrobiologicznych obecnych w zbiornikach wodnych obciążonych zakwitami sinic do rozkładu mikrocystryny-LR, jednego z najczęściej badanych i produkowanych w środowisku naturalnym wariantów mikrocystryny. W ramach tych badań wykonywałam analizy prób fitoplanktonu (w tym zespołów sinic) pobranych z czterech zbiorników z regionu Lubelszczyzny i dokonałam analizy statystycznej danych uzyskanych przez ogólnopolski zespół badaczy (Dziga i in. 2017 – B13). Współpraca ta zainspirowała mnie

w późniejszym okresie do podjęcia badań w zakresie biodegradacji mikrocyzyn przez konsorcja mikrobiologiczne spirodeli wielokorzeniowej *S. polyrhiza*, co skutkowało opublikowaniem dwóch prac poświęconych niniejszej tematyce (Toporowska 2022, **Publ. 3** i Toporowska i in. 2024, **Publ. 4**). Publikacje te stanowią część mojego osiągnięcia habilitacyjnego.

Badane przeze mnie zagadnienia dotyczące zjawiska sinicowych zakwitów wód i produkcji cyjanotoksyn **zainspirowały mnie do poszerzenia i podjęcia badań nad występowaniem i masowym rozwojem sinic oraz produkcją związków bioaktywnych w rzadko badanych pod tym kątem źródłach typu „ambient”**. Zainteresowanie to rozwinęłam dzięki uzyskaniu projektu finansowanego przez NCN w ramach konkursu Miniatura 3. **Projekt nr 2019/03/X/NZ8/01442 pt. „Różnorodność oraz potencjalna toksyczność sinic (Cyanobacteria) wybranych źródeł Lubelszczyzny i Rostocza” realizowałam w 2020 roku jako kierownik tematu oraz wykonawca**. Prace, w tym terenowe, prowadziłam również w 2021 roku, a były one finansowane ze środków Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów UP w Lublinie. **Dzięki przeprowadzonym badaniom ekotoksykologicznym na matach mikrobiologicznych pochodzących z antropogenicznie przekształconego źródła na Rostoczu po raz pierwszy wykazałam negatywny wpływ metabolitów obecnych w ekstraktach z mat zawierających znaczny udział sinic na przedstawiciela makrofitów *Spirodela polyrhiza* oraz wioślarkę *Daphnia magna*** (Toporowska i in. 2022 – **B29**). Szereg kolejnych eksperymentów ekotoksykologicznych wykazał zróżnicowany wpływ ekstraktów uzyskanych z różnych innych biomas sinic pobranych z kilku źródeł. Wyniki są gotowe do opublikowania. Prowadzony projekt zainspirował mnie do rozszerzenia badań i zaangażowania w nie specjalistów z zakresu hydrologii, diatomologii, badań nad pierwotniakami, zooplanktonem, makrozoobentosem i makrofitami (**współpraca z pracownikami Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów UP w Lublinie, Zakładu Biologii Wód im. Karola Starmacha Instytutu Ochrony Przyrody PAN w Krakowie, Katedry Biologii Morskiej i Biotechnologii Wydziału Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego, Katedry Hydrologii i Klimatologii Instytutu Nauk o Ziemi i Środowisku Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie**). Uzyskane wyniki po opublikowaniu przyczynią się do poszerzenia wiedzy na temat bioróżnorodności źródeł Lubelszczyzny i Rostocza, w tym w kontekście masowego występowania sinic bentosowych i bioaktywności ich metabolitów. Ważnym elementem poszerzania wiedzy na temat źródeł były dla mnie warsztaty terenowe prowadzone

podczas stażu naukowego w Faculty of Science Palacký University Olomouc (Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci) w Ołomuńcu w Republice Czeskiej w 2022 roku przez osobę goszczącą dr Zdenka Szczyrbę, przybliżające specyfikę źródeł na obszarze Krasu Morawskiego. Program obejmował m.in. prezentację źródła żelazistego Těšíkovská Kyselka, ujęcia wód mineralnych funkcjonującego od 1260 roku oraz wizytę w budynku uzdrowiska Slatinice, dysponującego wodami siarczanowymi. Podczas warsztatów pobierałam próby mat mikrobiologicznych ze źródeł.

Istotnym elementem badań w ramach zagadnienia związanego z sinicowymi zakwitami wód i produkcją toksyn była także realizacja w 2023 roku projektu badawczego pt. *„Zalew Zemborzycki i Rzeki Bystrzyca pod lupą. Jakie zagrożenia skrywają? Czas je poznać”* dotyczącego jakości wód rzeki Bystrzycy i Zalewu Zemborzyckiego, stanowiących główne elementy niebieskiej infrastruktury miasta i gminy Lublin. Projekt był finansowany przez Związek Uczelni Lubelskich (ZUL). Jako koordynator uczelniany i główny wykonawca brałam udział w opracowaniu metodyki badań, pobierałam próby w terenie, analizowałam mikroskopowo próby fitoplanktonu i fitobentosu oraz prowadziłam analizy mikrocystyn i anatoksyny-a techniką HPLC-PDA i HPLC-FLD. Badania prowadziłam we współpracy z trzema ośrodkami naukowymi w Lublinie tj. Katedrą Hydrologii i Klimatologii Instytutu Nauk o Ziemi i Środowisku Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie reprezentowaną przez dr hab. Stanisława Chmiela prof. uczelni, Katedrą i Zakładem Toksykologii Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Lublinie reprezentowaną przez dr hab. n. med. i n. o zdr. Mariolę Herbet oraz Katedrą Zaopatrzenia w Wodę i Usuwania Ścieków Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Lubelskiej reprezentowaną przez prof. dr hab. inż. Beatę Kowalską. Uzyskane wyniki wykazały m.in. silny wpływ sinicowych zakwitów wód w Zalewie Zemborzyckim na jakość wód rzeki Bystrzycy. Stwierdziłam m.in. w wodach rzeki poniżej zalewu obecność sinic oraz mikrocystyn występujących w akwenie. Wykazałam również wysoką biomasę okrzemek w pozostałych badanych rzekach, świadczącą o eutrofizacji ich wód. Obecnie trwają międzyuczelniane prace nad manuskryptem, który zostanie złożony do publikacji w renomowanym, międzynarodowym czasopiśmie z listy JCR. Część wyników badań własnych przedstawię w maju br. w formie posteru na międzynarodowej konferencji 13th International Conference on Toxic Cyanobacteria (ICTC13) na Krecie.

Prowadzenie badań z zakresu zakwitów wód wywołanych przez toksynotwórcze sinice pozwoliło mi również na udział w ostatnim okresie (2023 - 2024) w międzynarodowym

projekcie badawczym nr 2020/38/L/NZ9/00135 (konkurs DAINA 2) finansowanym przez NCN pt. „Viral control of harmful cyanobacterial blooms in freshwater ecosystems”. Projekt był realizowany przez Uniwersytet Jagielloński pod kierunkiem dr hab. Dariusza Dzigi prof. uczelni i Laboratory of Algology and Microbial Ecology, Nature Research Centre (NRC), State Research Institute, Wilno, Litwa pod kierunkiem dr Sigitasa Šulčiusa. Moja główna rola skupiała się na pobieraniu prób do badań metagenomowych oraz analizie prób fitoplanktonu, w tym sinic, pobranych w Zalewie Zemborzyckim. Obecnie kończone są prace laboratoryjne obejmujące analizę zebranego materiału biologicznego. Uzyskane wyniki będą opublikowane w uznanych, międzynarodowych czasopismach. **Mój udział w niniejszym projekcie zaowocował również nawiązaniem bezpośredniej współpracy z zespołem dr Sigitasa Šulčiusa z Laboratory of Algology and Microbial Ecology, Nature Research Centre (NRC), State Research Institute. Jednym z jej wymiernych efektów był mój siedmiodniowy staż naukowy odbyty w dniach 15-21 października 2023 w tej instytucji. Staż dotyczył metod przygotowania prób mikrobiologicznych do analiz metagenomowych zespołów bakterii oraz wirusowego DNA. W trakcie stażu brałam m.in. udział w izolacji DNA mikrobyoty *S. polyrhiza* oraz mat sinicowych zebranych w kilku źródłach Lubelszczyzny i Roztocza do sekwencjonowania metagenomowego. Część z uzyskanych wyników została opublikowana w pracy Toporowska i in. (2024, **Publ. 4**).**

B. Występowanie oraz rola wybranych gatunków obcych, inwazyjnych i ekspansywnych hydrobiontów

Badania realizowane w ramach współpracy z:

Institute of Botany, Nature Research Centre (NRC), State Research Institute, Wilno, Litwa

Zakład Ochrony Wód, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Moje zainteresowania naukowe obejmują również badania nad wybranymi obcymi, inwazyjnymi bądź ekspansywnymi gatunkami hydrobiontów. Na przykład eksperymentalne badania ekotoksykologiczne prowadzone **m.in. we współpracy z dr Juditą Koreivienė z Institute of Botany Nature Research Centre (NRC) State Research Institute w Wilnie oraz prof. Barbarą Pawlik-Skowrońską i dr hab. Wojciechem Pęczułą z Katedry Hydrobiologii wykazały po raz pierwszy, że ekstrakt z biomasy tworzącego zakwity wód rafidiofita *Gonyostomum semen* wpływał negatywnie na wioślarki *Daphnia magna*, co**

sugeruje produkcję potencjalnie toksycznych substancji przez badany ekspansywny gatunek glonu (Pęczuła i in. 2017 – B12). Ogólnopolskie badania podjęte we współpracy z dr Agnieszką Budzyńską z Zakładu Ochrony Wód Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pozwoliły na analizę występowania w wybranych zbiornikach wodnych Polski (w tym Lubelszczyzny) obcego dla kraju i inwazyjnego gatunku sinicy *Sphaerospermopsis aphanizomenoides* (Budzyńska i in. 2019 – B20). Gatunek ten stwierdzono w dwóch z dziesięciu badanych jezior i sztucznych zbiorników Lubelszczyzny, w tym w Zalewie Zemborzyckim, w którym obecność *S. aphanizomenoides* monitoruję i stwierdzam również obecnie (m.in. w ramach wspomnianego projektu realizowanego w 2023 z finansowania ZUL, międzynarodowego projektu DAINA, czy badań w ramach jednej z prowadzonych przeze mnie prac magisterskich). Uczestniczyłam również w eksperymencie dotyczącym badania wpływu inwazyjnego gatunku ryby *Ameiurus nebulosus* (sumik karłowaty) na mikrobiologiczne zespoły torfianek (Mieczan i in. 2022 – B28). Prace były prowadzone przez kilkoro specjalistów z Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów UP w Lublinie, zaś moją rolą była mikroskopowa analiza prób fitoplanktonu oraz analiza zmienności składu sinic i mikroglonów pobranych po zakończeniu eksperymentów.

C. Struktura i dynamika zespołów fitoperyfitonu oraz fitobentosu zbiorników słodkowodnych i torfowisk

Badaniami zespołów fitoperyfitonowych zainteresowałam się, jak wspomniałam wcześniej, już przed uzyskaniem stopnia doktora (Toporowska i in. 2008 – C2). Po uzyskaniu stopnia doktora prowadziłam badania glonów peryfitonowych w ramach współpracy z pracownikami macierzystej jednostki (Mieczan i in. 2015 – B8, Toporowska i in. 2018 – B14). W ramach grantu przyznanego prof. dr. hab. Tomaszowi Mieczanowi, finansowanego z NCN, brałam udział w eksperymentalnych badaniach dotyczących analizy wpływu mechanizmów kontroli "bottom-up" i "top-down" na dynamikę i różnorodność pierwotniaków w ekosystemach torfowiskowych. Efektem badań była m.in. publikacja opisująca konsekwencje wzbogacenia tych ekosystemów w azot i fosfor dla zespołów mikrobiologicznych, w tym analizowanych przeze mnie sinic i glonów (Mieczan i in. 2015 – B8). Analizowałam również wpływ czynników abiotycznych i biotycznych na rozwój fitoperyfitonu na trzinie pospolitej w czterech płytkich, hydrologicznie przekształconych jeziorach Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego (Toporowska i in. 2018 – B14). Badałam także fitoperyfiton zasiedlający trzinę pospolitą występującą w Jeziorze Syczyńskim, a wyniki

dotyczące stężenia fitoperyfitonowego chlorofilu-a, będącego wskaźnikiem biomasy fitoperyfitonu, posłużyły do analiz długoterminowych reakcji Diptera (Chironomidae) na usuwanie makrofitytów i stężenie fosforu w tym ekosystemie jeziornym (Tarkowska-Kukuryk i Toporowska 2021 – **B26**). Dzięki przeprowadzonym badaniom i zdobytej wiedzy rozwinęłam zainteresowania zespołami glonów fitoperyfitonowych oraz bentosowych występujących w źródłach typu „ambient” w ramach wspomnianego projektu finansowanego przez NCN. **Wykazałam po raz pierwszy negatywny wpływ mieszanin metabolitów produkowanych przez bentosowe sinice i glony źródeł na modelowe organizmy testowe** (Toporowska i in. 2022 – **B29**). Doświadczenie z zakresu metod badań okrzemek będących istotnym składnikiem fitoperyfitonu i fitobentosu, umożliwiło mi również podejmowanie badań monitoringowych fitobentosu, zgodnych z metodyką GIOŚ, poprzez udział w dwóch dużych projektach badawczo-usługowych.

D. Ocena jakości wód powierzchniowych

Badania prowadzone we współpracy z:

Katedra Hydrologii i Klimatologii, Instytut Nauk o Ziemi i Środowisku, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Katedra Zaopatrzenia w Wodę i Usuwania Ścieków, Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Lubelska

Zagadnieniem, którego realizację rozpocząłam po uzyskaniu stopnia doktora były badania dotyczące **jakości wód wybranych zbiorników słodkowodnych Lubelszczyzny**. Było to możliwe m.in. dzięki współpracy z **dr Beatą Ferencz z Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów UP w Lublinie oraz dr hab. Jarosławem Dawidkiem prof. uczelni z Katedry Hydrologii i Klimatologii Instytutu Nauk o Ziemi i Środowisku Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie**. W ramach ponad dziesięcioletniej współpracy ukazało się kilka impaktfaktorowych publikacji łączących interdyscyplinarną wiedzę i badania z zakresu hydrologii, hydrobiologii, a także ekotoksykologii (Ferencz i in. 2014 – **B6**, Ferencz i in. 2017 – **B11**, Ferencz i in. 2018 – **B15**, Toporowska i in. 2018 – **B17**, Ferencz i in. 2019 – **B22**, Ferencz i in. 2020 – **B25**, Toporowska i in. 2022 – **B29**, Ferencz i in. 2023 – **B30**). Moja rola polegała m.in. na analizie prób fitoplanktonu, w tym toksynotwórczych sinic, wykorzystaniu zespołu fitoplanktonu jako wskaźnika jakości badanych wód i prowadzeniu analiz statystycznych. Badania dotyczące jakości wód, w tym ich stanu troficznego,

prowadziłam również **we współpracy z pracownikami Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów UP w Lublinie dr hab. Wojciechem Pęczułą prof. uczelni i dr Magdaleną Suchorą**. Prace te zaowocowały oryginalną publikacją naukową (Pęczuła i in. 2014 – C5). Badania w zakresie jakości wód powierzchniowych w oparciu o pomiary i analizę wybranych parametrów fizykochemicznych wód oraz wskaźników okrzemkowych realizowałam również w ramach omówionego projektu dotyczącego jakości wód Zalewu Zemborzyckiego i rzeki Bystrzycy, realizowanego przez cztery lubelskie uczelnie w 2023 w ramach finansowania ZUL.

E. Bezpieczeństwo stosowania, funkcje oraz wpływ na środowisko wybranych surowców i substancji wykorzystywanych w biokosmetologii

W związku z prowadzoną działalnością dydaktyczną najpierw na kierunkach Kosmetologia i Beauty Science w Wyższej Szkole Społeczno-Przyrodniczej im. Wincentego Pola w Lublinie (obecnie Akademii Wincentego Pola w Lublinie), a następnie na kierunkach Biokosmetologia i Ochrona środowiska w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie skierowałam swoje zainteresowania naukowe na stosowanie, rolę i wpływ na środowisko naturalne wybranych substancji stosowanych w przemyśle kosmetycznym. **Prace prowadzone przeze mnie w tym zakresie obejmowały współpracę z pracownikami Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów UP w Lublinie oraz kierowanie pracami studentek kierunku Biokosmetologia**. Współpraca ta zaowocowała publikacją 9, głównie przeglądowych rozdziałów w monografiach naukowych (Bownik i in. 2021 – A2, Kaczorowska i in. 2021 – A3, Mieczan i in. 2021 – A4, Toporowska i in. 2021 – A5, Wargala i in. 2021 – A6, Wargala i in. 2021 – A7, Tulejbcich i in. 2022 – A8, Wargala i in. 2022 – A9, Wargala i in. 2023 – A10), a także publikacją pracy przeglądowej w nowo utworzonym czasopiśmie Women (Wargala i in. 2021 – C8). Czasopismo to w 2023 roku trafiło na listę Web of Science, a sama publikacja znajduje się obecnie na pierwszym miejscu najlepiej cytowanych prac we wspomnianym żurnalu (17 cytowań wg Web of Science, Thomson Reuters, marzec 2024).

Udział w projektach badawczo-usługowych

W ramach pracy w Katedrze Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów UP w Lublinie **brałam także udział w 19 projektach badawczo-usługowych, w tym w 11 jako kierownik, a w 15 jako główny wykonawca badań**. Były to (w nawiasach podano rok, mój udział oraz instytucje współpracujące): „Diagnoza stanu ekologicznego Zalewu Kraśnickiego i zasilającej go rzeki Wyżnicy oraz zalecenia dotyczące możliwości poprawy obecnej sytuacji” (2008,

analiza zespołu fitoplanktonu, w tym sinic, Urząd Miasta w Kraśniku); „Funkcjonowanie zbiorników retencyjnych w strefie oddziaływania systemu Kanału Wieprz-Krzna (Pojezierze Łęczyńsko-Włodawskie)” (2012-2013, analiza fitoplanktonu, w tym sinic oraz toksyn sinicowych – mikrocystyn, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Hydrobiologii, Realizacja badań mikrocystyn w Stacji Badawczej Centrum Badań Ekologicznych Polskiej Akademii Nauk w Lublinie); "Badania dynamiki rozwoju sinic i produkcji cyjanotoksyn w zbiorniku Zemborzyckim na tle warunków środowiskowych w 2014 r." (2014, analiza fitoplanktonu, w tym sinic, oraz toksyn sinicowych – mikrocystyn, Urząd Miasta w Lublinie. Realizacja zadania w Stacji Badawczej Centrum Badań Ekologicznych Polskiej Akademii Nauk w Lublinie); "Badania dynamiki rozwoju sinic i produkcji cyjanotoksyn w zbiorniku Zemborzyckim na tle warunków środowiskowych w 2015 r." (2015, analiza fitoplanktonu, w tym sinic, oraz toksyn sinicowych – mikrocystyn, Urząd Miasta w Lublinie, realizacja od 2015 r. w Katedrze Hydrobiologii UP w Lublinie); "Badania dynamiki rozwoju sinic i produkcji cyjanotoksyn w zbiorniku Zemborzyckim na tle warunków środowiskowych w 2016 r." (2016, analiza fitoplanktonu w tym sinic oraz toksyn sinicowych – mikrocystyn, Urząd Miasta w Lublinie); "Badania dynamiki rozwoju toksyno-twórczych sinic w zbiorniku Zembrzyckim oraz ich rozprzestrzeniania się w rzece Bystrzycy w 2017 r., z uwzględnieniem warunków środowiskowych" (2017, analiza fitoplanktonu, w tym sinic, oraz toksyn sinicowych – mikrocystyn w próbach wody i tkankach ryb, Urząd Miasta w Lublinie); „Analiza chlorofilu-a oraz fitoplanktonu, w tym sinic, w próbach wody jeziornej” (2019, analiza fitoplanktonu, J.S. Hamilton Poland Spółka z o.o. z siedzibą w Gdyni); „Analizy chlorofilu-a, feofityn, fitoplanktonu, w tym sinic, w próbach wód powierzchniowych” (2020, analiza fitoplanktonu i chlorofilu-a, Eurofins OBiKŚ Polska spółka z o.o., z siedzibą w Katowicach); „Analizy chlorofilu-a oraz fitoplanktonu, w tym sinic, w próbach wody jeziornej” (2020, analiza fitoplanktonu, J.S. Hamilton Poland Spółka z o.o. z siedzibą w Gdyni); „Badania stanu biologicznego wód rzeki Świnki, zgodnie z metodami referencyjnymi wskazanymi w obowiązujących przepisach w sprawie form i sposobu prowadzenia monitoringu jednolitych części wód powierzchniowych i podziemnych” (2020, pobieranie prób i analiza fitobentosu oraz określenie stanu ekologicznego wód rzeki Świnki na podstawie indeksu okrzemkowego dla rzek IO, Lubelski Węgiel "BOGDANKA"); „Analizy chlorofilu-a, feofityn, fitoplanktonu, w tym sinic, w próbach wód powierzchniowych” (kontynuacja projektów w latach 2021-2025, analiza fitoplanktonu, J.S. Hamilton Poland Spółka z o.o. z siedzibą w Gdyni); „Identyfikacja taksonomiczna oraz analiza ilościowa (liczebności i biomasy) złotowiciowca *Prymnesium parvum* w próbach wód powierzchniowych” (projekty realizowane w latach 2023, 2024 i 2025)

identyfikacja taksonomiczna, oznaczanie liczebności i biomasy *P. parvum* w próbach wody pobranych w rzece Odrze, Miejskie Przedsiębiorstwo Wodociągów i Kanalizacji S.A. z siedzibą we Wrocławiu); „Monitoring elementów hydrologicznych rzek i cieków oraz biologicznego stanu wód powierzchniowych rzek, cieków, jezior i zbiorników wodnych w latach 2023-2024 na potrzeby oceny stanu lub potencjału ekologicznego jednolitych części wód powierzchniowych na obszarach górniczych Lubelskiego Węgla „Bogdanka” S.A.” (2023-2024, pobieranie prób i analiza fitobentosu oraz określenie stanu ekologicznego wód rzeki Świnki na podstawie indeksów okrzemkowych dla jezior IOJ i rzek IO, na zlecenie Pomiar-GIG Przedstawiciel Głównego Instytutu Górnictwa Sp. z o.o. z siedzibą w Lublinie, Inwestor: Lubelski Węgiel Bogdanka S.A.). Część wyników badań przeprowadzonych w ramach ww. projektów została opublikowana w formie artykułów (Pawlik-Skowrońska i in. 2014 – C4, Pęczuła i in. 2014 – C5, Pawlik-Skowrońska i in. 2015 – C6, Pawlik-Skowrońska i Toporowska 2016 – B9), rozdziału w monografii (Pawlik-Skowrońska i Toporowska 2012 – A1), maszynopisów lub doniesień konferencyjnych.

Podsumowanie osiągnięć w pracy naukowo-badawczej

Podczas mojej pracy naukowej aktywnie uczestniczyłam w licznych krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych, prezentując wyniki badań. Jestem autorką lub współautorką 38 doniesień naukowych, z czego 25 zostało opublikowanych w języku angielskim. **Jestem autorką lub współautorką 33 publikacji indeksowanych w bazie Web of Science, z których 31 posiada IF, 9 recenzowanych publikacji spoza bazy JCR oraz 10 rozdziałów w monografiach.** Łączny **Impact Factor (IF)** moich publikacji wynosi **90,283**, natomiast całkowita punktacja według **Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW)** to **2500 punktów**.

Według bazy **Web of Science** (stan na 07.04,2025):

- **Liczba cytowań** moich publikacji wynosi **806** (w tym **732** bez autocytowań).
- **Indeks Hirscha (h-index)** **17**.

Od 2013 roku dokonałam 48 recenzji prac naukowych zgłoszonych do publikacji w czasopiśmie naukowych, w tym 46 w czasopiśmie z listy JCR, posiadających Impact Factor. Prowadzone przeze mnie badania, w tym te realizowane we współpracy z ekspertami z różnych dziedzin nauk biologicznych, w tym z ośrodków zagranicznych, ze względu na swoją wielodyscyplinarność, pozwoliły mi na szersze zrozumienie m.in. problematyki zakwitów wód

spowodowanych przez toksynotwórcze sinice. Dodatkowo, zdobyta wiedza umożliwiła mi skuteczne kierowanie projektami badawczymi oraz badawczo-usługowymi.

Uważam, że moja wiedza i kompetencje w obszarze biologii, ekologii i ekotoksykologii, w połączeniu z doświadczeniem w prowadzeniu badań naukowych, udokumentowane przedstawionym dorobkiem i osiągnięciami, stanowią solidną podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

6. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ.

Osiągnięcia dydaktyczne

W latach **2006–2010**, podczas studiów doktoranckich, prowadziłam na **Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie** ćwiczenia w ramach przedmiotów Monitoring środowiska (kierunek: Ochrona środowiska) oraz Ekotoksykologia wód (kierunek: Biologia).

Po uzyskaniu stopnia doktora, w latach **2016–2020**, prowadziłam zajęcia dydaktyczne z przedmiotów Higiena, Hygiene, Elements of Cosmetic Botany, Microbiology and Parasitology, Thalassotherapy odpowiednio na kierunkach **Kosmetologia i Beauty Science w Wyższej Szkole Społeczno-Przyrodniczej im. Wincentego Pola w Lublinie** (obecnie Akademii Wincentego Pola w Lublinie). Byłam autorką sylabusów wszystkich wymienionych modułów.

Od **2019 roku** jako adiunkt prowadzę na **Wydziale Biologii Środowiskowej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie** wykłady i/lub ćwiczenia zarówno w języku polskim, jak i angielskim. Od **2020 roku** realizuję pełny wymiar pensum dydaktycznego obowiązującego na UP w Lublinie. W ramach działalności dydaktycznej prowadziłam bądź prowadzę zajęcia z następujących przedmiotów:

- Ochrona środowiska: Zrównoważony rozwój, Standardy i wskaźniki jakości środowiska, Monitoring środowiska, Ekologia mikroorganizmów wodnych, Ocena oddziaływania inwestycji na środowisko, Botanika
- Biobezpieczeństwo i zarządzanie kryzysowe: Regulacje procesów komórkowych, Ekotoksykologia

- Biologia: Protistologia, Oddziaływanie substancji bioaktywnych na organizm, Monitoring biologiczny, Biodiversity
- Biokosmetologia: Normalizacja i standaryzacja surowców i produktów kosmetycznych, Metabolity pochodzenia biologicznego w kosmetologii, Talasoterapia, Inżynieria komórkowa i tkankowa w kosmetologii
- program Erasmus+: Sustainable Development, Ecosystem Services, Standards and Indices of Environmental Quality

Dla 10 modułów dydaktycznych opracowałam szczegółowe sylabusy.

Pełniłem również funkcję opiekuna naukowego trzech prac inżynierskich i pięciu prac magisterskich (Tabela 1). Obecnie opiekuję się czterema pracami magisterskimi z zakresu ochrony środowiska i biologii stosowanej.

TABELA 1. SZCZEGÓŁOWY WYKAZ PRAC, W KTÓRYCH BYŁAM OPIEKUNEM NAUKOWYM (PRACE ZREALIZOWANE).

Liczba prac	Rodzaj pracy dyplomowej	Kierunek studiów, wydział, uniwersytet	Tytuły prac
3	inżynierska	Biokosmetologia, Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie	1. Roślinne ekstrakty, substancje biologicznie czynne i ocena preparatu o właściwościach antyoksydacyjnych 2. Roślinne ekstrakty, substancje biologicznie czynne i ocena preparatu o właściwościach ujędrniających 3. Roślinne ekstrakty, substancje biologicznie czynne i ocena preparatu o właściwościach rozjaśniających.
1	magisterska	Biokosmetologia, Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie	1. Ocena stanu naskórka po zastosowaniu wybranych preparatów kosmetycznych o działaniu nawilżającym
2	magisterska	Ochrona środowiska, Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie	1. Wpływ metabolitów wtórnych sinic na rozwój i produkcję barwników zielenicy <i>Chlorella vulgaris</i> Beijerinck 2. Wpływ zadrzewień na przeciwdziałanie zjawisku miejskiej wyspy ciepła w wybranych regionach Opola Lubelskiego
2	magisterska	Biologia sądowa i Biologia Stosowana, Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie	1. Kolonizacja różnych typów tkanin odzieżowych przez okrzemki (Bacillariophyceae) w wybranym ekosystemie wodnym. 2. Wykorzystanie okrzemek (Bacillariophyceae) w identyfikacji miejsca

W 2021 roku studentki kierunku **Biokosmetologia** – **Eliza Wargala, Agnieszka Zalewska i Martyna Sławska** – prowadzące pod moim kierunkiem badania dotyczące stosowania mikroplastiku w kosmetykach, zostały **dwukrotnie wyróżnione** za prezentację wyników swoich badań w formie referatów:

- „*Stosowanie mikroplastiku w kosmetykach i jego rola w zanieczyszczeniu środowiska – wyniki ankiety badawczej prowadzonej na grupie studentów kierunku kosmetycznego*” – Ogólnopolska Konferencja Naukowa FORUM MŁODYCH NAUKOWCÓW „Nauki przyrodnicze i medyczne”, Lublin, 10 września 2021 r.

- „*Mikroplastik w kosmetykach i jego wpływ na środowisko*” – Międzynarodowe Sympozjum Kół Naukowych i Ogólnopolska Konferencja Doktorantów, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, 15 kwietnia 2021 r.

Wyróżnienia te podkreślają wysoki poziom prowadzonych badań studenckich oraz stanowią dowód na rosnące zainteresowanie problemem mikroplastiku w kosmetykach oraz jego wpływem na środowisko.

Osiągnięcia organizacyjne

W 2021 roku zostałam powołana, na cały okres studiów rocznika, do pełnienia funkcji **Opiekuna roku studiów stacjonarnych I stopnia kierunku Biologia**. Ponowną nominację otrzymałam w 2023 roku.

Od 2021 roku **jestem członkiem Rady Programowej kierunku Biokosmetologia**, a w okresie od marca 2021 do grudnia 2021 byłam **członkiem zespołu ds. opracowania programu i efektów uczenia się dla studiów II stopnia kierunku Biokosmetologia**.

Od 2014 roku **jestem członkiem Rady Naukowej Ośrodka Badań Hydrobiologicznych Centrum Innowacji Badań i Nauki w Lublinie**, zaś od kwietnia 2021 roku **jestem członkiem Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**.

Od listopada 2020 roku pełnię również funkcję **członka Komisji ds. ewaluacji i podziału subwencji na badania naukowe w dyscyplinie nauki biologiczne UP w Lublinie**.

Czterokrotnie brałam udział w organizacji badań, warsztatów i konferencji naukowych:

- 1) **2015 - 2016, współkoordynator badań prowadzonych przez polskie zespoły w ramach ogólnoeuropejskiego projektu badawczego "European Multi Lake Survey, summer 2015"**, koordynowanego przez Uniwersytet Genewski, Szwajcaria.
- 2) **2015, członek Komitetu Organizacyjnego "Ogólnopolskich Warsztatów Sinicowych"** organizowanych przez Katedrę Hydrobiologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie w dniu 18 czerwca 2015 roku w celu utworzenia polskich zespołów naukowo-badawczych, biorących udział w ogólnoeuropejskim programie „European Multi Lake Survey, summer 2015”.
- 3) **2016, członek Komitetu Naukowo-Organizacyjnego XXIII Ogólnopolskich Warsztatów Bentologicznych „Rzeki polihumusowe”**, organizowanych przez Ośrodek Badań Hydrobiologicznych Centrum Innowacji Badań i Nauki w dniach 19-21 maja 2016 roku w Janowie Lubelskim.
- 4) **2016 - 2017, sekretarz Komitetu Organizacyjnego 36-tej Międzynarodowej Konferencji Fykologicznej**, organizowanej przez Katedrę Hydrobiologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie oraz Polskie Towarzystwo Fykologiczne w dniach 24-27 maja 2017 roku w Lublinie-Kazimierzu Dolnym.

Działania popularyzujące naukę

Przed uzyskaniem stopnia doktora wzięłam udział w III Lubelskim Festiwalu Nauki, prezentując dwukrotnie wykład pt. „Zakwity tworzone przez sinice” (wrzesień 2006).

Po uzyskaniu stopnia doktora w marcu 2020 roku przeprowadziłam w klasie drugiej Szkoły Podstawowej nr 31 im. Lotników Polskich w Lublinie praktyczną lekcję pt. „Zawód biolog: poznajemy tajemnice małych stworzeń”. Uczniowie pracowali z mikroskopami i preparatami mikroskopowymi. Celem lekcji było propagowanie higieny i profilaktyki wszawicy oraz chorób odkleszczowych.

We wrześniu 2022 roku wzięłam udział w XVIII Lubelskim Festiwalu Nauki jako współautorka i współprowadząca projekt „Dzikie ogrody w kropelce wody”, Projekt UP080.

W lutym 2023 roku **uczestniczyłam w programie „Dzień dobry TVN” w roli eksperta z zakresu talasoterapii.** W podobnej roli wystąpiłam w sierpniu 2023 roku **udzielając wywiadu** pt. *„Hipokrates leczył nią reumatyzm, a Henryk II Waleczusz uśmierzał świądy. Co to jest talasoterapia?” dla weekend.gazeta.pl*

W marcu 2023 roku wzięłam **udział w roli eksperta** w Debacie Kuriera Lubelskiego i Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie *„Dzień wody 2023 – przyspieszenie zmian”*. Wypowiadałam się m.in. na temat katastrofy ekologicznej na Odrze, spowodowanej zakwitami złotowiciowca *Prymnesium parvum* potocznie zwanego „złotą algą”.

Jestem też autorką publikacji popularnonaukowej pt. *„Czy toksynotwórcze sinice występują w źródłach Wyżyny Lubelskiej i Roztocza?”* 2021. Aktualności Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, 1 (103), 27-29.

7. OPRÓCZ KWESTII WYMIENIONYCH W PKT. 1-6, WNIOSKODAWCA MOŻE PODAĆ INNE INFORMACJE, WAŻNE Z JEGO PUNKTU WIDZENIA, DOTYCZĄCE JEGO KARIERY ZAWODOWEJ.

Otrzymane nagrody, wyróżnienia i odznaczenia

przed uzyskaniem stopnia doktora:

2004, 21 grudnia - Stypendium Ministra Edukacji Narodowej i Sportu za osiągnięcia w nauce przyznane na rok akademicki 2004/2005

2006, 14 stycznia - Dyplom Wyróżniającego się Absolwenta Akademii Rolniczej w Lublinie za wybitne osiągnięcia w nauce, nr dyplomu 276

2006, 14 stycznia – Dyplom Uznania Wojewody Lubelskiego za bardzo dobre wyniki w nauce, zaangażowanie w studenckim ruchu naukowym i działalność w organizacjach młodzieżowych

2006, 14 stycznia - Honorowa Odznaka Absolwenta Akademii Rolniczej w Lublinie, Legitymacja nr 4/2006, przyznanej przez Rektora Akademii Rolniczej w Lublinie

2008, 1 października - Dyplom Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie za osiągnięcia naukowe w latach 2006-2008

po uzyskaniu stopnia doktora:

2013, 22 listopada – Wyróżnienie za poster „Glony w kosmetologii – przegląd” I Ogólnopolska Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Nowoczesne technologie i zabiegi w kosmetologii” 21 – 22 listopada, Wyższa Szkoła im. Wincentego Pola w Lublinie, Wydział Fizjoterapii

2014, 1 października - Nagroda pieniężna Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego za osiągnięcia zawodowe w roku 2014

2014, 21 maja – Diploma for the III place in „The Best Poster Presentation” competition at the 33th International Conference of the Polish Phycological Society „Cyanobacterial and algale blooms – effects on water management and human health”, 19-22 maja-2022, Gdynia-Cetniewo

2018, 1 października - Nagroda pieniężna Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego za osiągnięcia zawodowe w roku 2017

2019, 1 października - Nagroda pieniężna Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego za osiągnięcia zawodowe w roku 2018

2021, 21 marca - nagroda “Toxins 2020 Best Paper Awards” za publikację Mantzouki E., Lürling M., Fastner J., de Senerpont Domis, L.; Wilk-Woźniak E., Koreivienė J., Toporowska M., Pawlik-Skowrońska B., Niedźwiecki M., Pęczuła W., Ibelings B.W. 2018. Temperature Effects Explain Continental Scale Distribution of Cyanobacterial Toxins. Toxins, 10 (4), 156. doi:10.3390/toxins10040156 przyznana przez czasopismo Toxins, potwierdzona certyfikatem (MDPI IF 2020 =3,531)

2022, 29 września - Nagroda indywidualna III stopnia z okazji Inauguracji Roku Akademickiego 2022/2023 przyznana przez Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego **za osiągnięcia publikacyjne**

2024, 29 września - Nagroda indywidualna I stopnia z okazji Inauguracji Roku Akademickiego 2024/2025 przyznana przez Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego **za osiągnięcia publikacyjne**

Udział w kursach i szkoleniach

Zarówno przed uzyskaniem jak i po uzyskaniu stopnia doktora brałam udział w wielu kursach i szkoleniach podnoszących moje kompetencje zawodowe.

przed uzyskaniem stopnia doktora:

2003- 2005 – Polska, Lublin. Kwalifikacyjne **studia pedagogiczne** ukończone z wynikiem dobrym. **Akademia Rolnicza w Lublinie, Międzywydziałowe Studium Pedagogiczne**. 1,5 roku (3 semestry)

2004/2005 – Polska, Lublin. **Kurs Wewnętrznego Audytora Jakości** organizowany przez Akademię Rolniczą w Lublinie i Bureau Veritas Quality International potwierdzony egzaminem i certyfikatem nr 193.AR/05 z dnia 08.06.2005 r. – 30 godzin.

2007, marzec - Polska, Kraków. Polska Akademia Nauk, Instytut Ochrony Przyrody, Zakład Ochrony Wód im. Karola Starmacha. **Konsultacje w zakresie metod analiz epifitycznych okrzemek** - 3 dni.

2008, 8 września – Polska, Lublin. **Uzyskanie certyfikatu z języka angielskiego na poziomie C1** (telc English C1). Numer certyfikatu 27E0321060819090000-02703

2009, 29 czerwca – 3 lipca - Polska, Poznań. Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Instytut Biologii Środowiska, Zakład Hydrobiologii. **Udział w 18-tej Międzynarodowej Ekologicznej Szkole Letniej "Warsztaty Zielenicowe Profesora Hindaka"** - 5 dni.

2009, 29-30 września - Polska, Gdańsk. Uniwersytet Gdański, Instytut Oceanografii. **Udział w warsztatach szkoleniowych "Toksyczne zakwity sinic w wodach słodkich i słonawych"** - 2 dni.

2009-2010, 16 listopada – 13 stycznia – Polska, Lublin. Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie. **Udział w szkoleniu „Z nauki do gospodarki”** organizowanym w ramach projektu nr POKL.08.02.01-06-030/09 – 30 godzin.

po uzyskaniu stopnia doktora:

2014, czerwiec – Polska, Lublin. **Udział w warsztatach „Warsztat wnioskodawcy. Praktyczne wskazówki dla ubiegających się o granty badawcze programu Horyzont 2020”**, Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN w Lublinie – 5 godz.

2015, maj - Francja, Evian-les-Bains. Uniwersytet Genewski. **Udział w warsztatach „European Multi Lake Survey, summer 2015”**, organizowanych w ramach działań CyanoCOST i NETLAKE - 3 dni.

2016, 1 lipca – Polska, Łódź. Uniwersytet Łódzki, Zakład Algologii i Mykologii. **Udział w warsztatach „Microscopic Imaging Techniques Workshop”**, obejmujących ćwiczenia praktyczne z wykorzystaniem mikroskopu konfokalnego, skaningowego i świetlnego o wysokiej rozdzielczości – 3 godz.

2016, listopad - Polska, Lublin. **Kurs „Obsługa sterylizatorów (autoklawów) laboratoryjnych”**, organizowany przez P.U.E „SPE” Spółka z o. o. w Radomiu - 1 dzień.

2017, 4-6 lipca - Polska, Kraków. **Udział w międzynarodowych warsztatach „CyanoStop2017”**, dotyczących teoretycznych zagadnień i praktycznych ćwiczeń z zakresu detekcji genów odpowiedzialnych za produkcję toksyn sinicowych: produkcja rekombinowanych białek Mlr, oczyszczanie białek Mlr przez chromatografię powinowactwa, elektroforeza i „Western blot” białek Mlr, oraz interpretacja spektrów MS cyanopeptydów. Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński - 3 dni.

2017, 12 grudnia – Polska, Warszawa. **Udział w szkoleniu „PCR i real-time PCR – projektowanie reakcji, walidacja metody, analiza wyników”**. CE2 Centrum Edukacji – 8 godz.

2020, październik – **Udział w szkoleniu on-line „Platforma edukacyjna dla nauczycieli akademickich OPE ID:SIT_OPE/aHCM_OPE/19/S”** – 4 godz.

2021, 22 marca – **Udział w szkoleniu on-line „Sprawniej i szybciej w chromatografii cieczowej - współczesne technologie kolumn HPLC w portfolio Merck”** organizowanym przez firmę Merck Sp. z o.o. – 1 godz.

2021, 12 kwietnia – **Udział w szkoleniu on-line „Zastosowanie nowatorskich metod cytometrycznych w wieloparametrowej analizie komórek”** organizowanym przez firmę Merck Sp. z o.o. – 1 godz.

2021, 31 marca – 2022, 8 marca - Polska, Lublin. **Udział w kursie językowym (język angielski poziom Advanced, C1)** w ramach projektu współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój, projekt pozakonkursowy pt. „Podniesienie kompetencji kadry akademickiej i potencjału instytucji w przyjmowaniu osób z zagranicy – Welcome to Poland” realizowany w ramach Działania określonego we wniosku o dofinansowanie projektu nr POWR.03.03.00-00-PN14/18; nr umowy: PPI/WTP/2019/1/00043/U/00001, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

2021, 9 kwietnia – **Udział w szkoleniu on-line „Dokładne i szybkie liczenie komórek oraz oznaczanie ich wielkości - licznik Scepter”** organizowanym przez firmę Merck Sp. z o.o. – 1 godz.

2021, kwiecień – **udział w webinarium „Jak usprawnić pracę w Statistica, czyli przegląd sposobów automatyzacji zadań”** organizowane przez StatSoft Polska – 1 godz.

2021, maj – **udział w szkoleniu on-line „Wymagania prawne dla surowców kosmetycznych”** organizowanym przez J.S. Hamilton Poland Sp. z o. o. zaświadczenie nr 752/Z/BK/05/2021/ON-LINE – 5 godz.

2021, 24 września – Polska, Rzeszów. **udział w warsztatach “Basics on natural cosmetics formulations”** organizowanych w ramach konferencji Natural Cosmetics International Meeting, Rzeszów, Poland – 2 godz.

2021, 24 września – Polska, Rzeszów. **udział w warsztatach “Calculations of the natural and organic index”** organizowanych w ramach międzynarodowej konferencji Natural Cosmetics International Meeting, Rzeszów, Poland – 2 godz.

2022, 20 stycznia – Polska, Lublin. **Udział w szkoleniu „Ochrona własności intelektualnej”** Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie – 1 godz.

2022, 13 kwietnia – udział w warsztatach on-line „System Spectroquant – spektrofotometryczne metody pomiaru parametrów chemicznych oraz sprawdzenie systemu” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2022, 20 kwietnia – udział w warsztatach on-line „Ekstrakcja do fazy stałej w praktyce” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2022, 27 kwietnia – udział w warsztatach on-line „Chromatografia cieczowa: przygotowanie układu pomiarowego” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2022, 11 maja – udział w warsztatach on-line „Muse Cell Analyzer – demokratyzacja cytometrii. Cytometria bez wysiłku.” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2022, 11 maja – Polska, Lublin. Uzyskanie certyfikatu z języka angielskiego na poziomie C1 (telc English C1), Centrum Egzaminacyjne TELC Rzeszów

2022, 18 maja – udział w warsztatach on-line „Cytometria przepływowa z obrazowaniem Amnis ImageStream. Warsztaty z analizy danych z wykorzystaniem modułów sztucznej inteligencji.” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2022, 1 czerwca – udział w warsztatach on-line „Jak szybko i skutecznie ocenić stan higieniczny powierzchni produkcyjnych w przemyśle spożywczym” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2022, 28 września – udział w warsztatach on-line „Technika LC-MS/MS we współczesnej analizie próbek biologicznych i żywności” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2022, 8 czerwca – udział w warsztatach on-line „Rozwiązania do filtracji analitycznej i przygotowania prób” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2022, 19 października – udział w konferencji on-line StatSoft Polska „Zastosowania statystyki i data mining w badaniach naukowych” – 4,5 godz.

2023, 27 czerwca – udział w warsztatach on-line „Substancje smakowe i zapachowe – wymogi i regulacje prawne zapewniające bezpieczeństwo produktu końcowego” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2023, 06-09 grudnia – Polska, Lublin. Udział w szkoleniu „Szkolenie z procesu kształcenia osób z niepełnosprawnościami” w ramach projektu „Dostępny UPL”, współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, realizowane przez Centrum Kształcenia Zawodowego Factory Talent Piotr Nowaczek – 35 godz.

2023, 14-15 grudnia – udział w szkoleniu „Statystyka w naukach przyrodniczych – szkolenie zaawansowane” StatSoft Polska – 16 godz.

2023 – 19 grudnia – udział w szkoleniu on-line „Edycja genów” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2024, 18 stycznia – Polska, Lublin. Udział w szkoleniu „Równość płci” Dejko Joanna Studium Doskonalenia Zdolności poznawczych – 4 godz.

2024, 27 marca – webinar „Shaping the Future of Research with AI conducted” prowadzony przez Dr. Jacob Wickham - 1 godz.

2024, 9 kwietnia – udział w szkoleniu on-line „Technika LC-MS/MS we współczesnej analizie próbek biologicznych i żywności” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2024, 11 kwietnia – Polska, Lublin. Udział w szkoleniu MERCK DAY „Praktyczne aspekty chromatografii cieczowej” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 4 godz.

2024, 23 kwietnia – udział w szkoleniu on-line „Praktyczne zastosowanie ultrafiltracji do przygotowania próbek” Merck Life Science Sp. Z o.o. – 1 godz.

2024, 27 czerwca – Polska, Lublin. Udział w szkoleniu „Ogólny zarys regulacji prawnej w obszarze sztucznej inteligencji ze szczególnym uwzględnieniem problematyki prawa autorskiego (problem legalnej eksploracji tekstów i danych oraz problematyka ochrony prawnej wytworów generowanych przez sztuczną inteligencję” zorganizowanym przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie – 5 godz.

2024, 25 września – Polska, Lublin. Udział w szkoleniu Scopus AI dla Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Elsevier – 1 godz.

2025, 25 marca – webinar „Skuteczne narzędzia do formulacji płynnych i skalowania - na przykładzie branży kosmetycznej”, IKA Poland – 0,5 godz.

Perspektywy badawcze i rozwój naukowy w najbliższym czasie

Moje najbliższe plany naukowe koncentrują się na kontynuacji publikacji wyników badań uzyskanych w ramach dotychczasowej działalności badawczej. Planuję również dalsze prace nad ekotoksycznością oligopeptydów sinicowych oraz pogłębianie wiedzy w zakresie metabolomiki sinic. W maju br. wezmę udział w **13th International Conference on Toxic Cyanobacteria**, organizowanej przez **Aristotle University of Thessaloniki, NCSR Demokritos oraz EYDAP SA & NCSR Demokritos** na Krecie. Podczas konferencji zaprezentuję poster pt. *„Toxin-producing cyanobacterial blooms in the waters of blue infrastructure of Lublin city (Eastern Poland): Implications for water quality and ecological status”* oraz będę uczestniczyć w warsztatach **„Mass spectrometry-based metabolomics for cyano-metabolites”**.

Planuję intensyfikację międzynarodowej współpracy naukowej oraz rozwój zarówno w obszarze badawczym, jak i dydaktycznym. Realizacji tych celów sprzyjać będą zaplanowane mobilności:

- tygodniowy wyjazd dydaktyczny w ramach programu **Erasmus+** do **Department of Hydrobiology and Ichthyology, School of Natural Sciences and Engineering, Ilia State University** (maj br.)

- oraz dwutygodniowy staż naukowy w **Environmental Fluid Dynamics Research Group, University of Granada (Hiszpania)** (czerwiec br.), którego celem jest zdobycie zaawansowanej wiedzy oraz realizacja badań dotyczących oceny i modelowania ryzyka powodziowego przy użyciu oprogramowania Iber, ze szczególnym uwzględnieniem zmian struktury fitoplanktonu w systemach rzecznych.

Działania te pozwolą mi nie tylko poszerzyć kompetencje badawcze, ale również wzmocnić międzynarodową współpracę i interdyscyplinarne podejście do prowadzonych badań.

.....
(podpis wnioskodawcy)