

Streszczenie

Nanomateriały wchodzą do powszechnego użytku niemal we wszystkich dziedzinach życia, od produktów spożywczych, przez materiały budowlane, aż po nowoczesne rolnictwo. Wprowadzanie tych substancji do obrotu może się wiązać z ich niekontrolowanym uwalnianiem do środowiska naturalnego. Pierwszymi organizmami, które mogą mieć kontakt z tymi materiałami są drobnoustroje. Ich reakcja na nanomateriał w środowisku może przebiegać w wielu kierunkach, od zubożenia populacji mikroorganizmów, aż po możliwość stymulacji drobnoustrojów. Wiadomym jest, że nanomateriały mogą chemicznie i fizycznie oddziaływać na parametry życiowe komórek, natomiast do tej pory nie weryfikowano szeroko wpływu nanostruktur także na inne parametry, w tym np. zdolność wytwarzania wtórnych metabolitów, które mogą znaleźć zastosowanie w biotechnologii i rolnictwie.

Celem pracy była ocena wpływu wybranych nanomateriałów węglowych i krzemionkowych niemodyfikowanych i funkcjonalizowanych na wybrane parametry życiowe bakterii z rodzajów *Pseudomonas* i *Streptomyces*, określające cechy użytkowe znajdujące zastosowanie w biotechnologii rolniczej. Hipoteza badawcza zakładała, że nanomateriały nie tylko mogą oddziaływać z drobnoustrojami, ale także stymulować je do wytwarzania metabolitów wtórnych i zmiany antagonizmu wobec innych drobnoustrojów.

Materiał badawczy stanowiło 10 referencyjnych i środowiskowych szczepów drobnoustrojów, po 5 z rodzaju *Pseudomonas* i *Streptomyces* oraz referencyjne drobnoustroje testowe *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*. Nanomateriałami wybranymi do testów były nanorurki węglowe, nanorurki węglowe funkcjonalizowane miedzią, tlenek grafenu, tlenek grafenu funkcjonalizowany kobaltem, mezoporowate nanosfery krzemionkowe z ditlenkiem tytanu, a także mezoporowate nanorurki krzemionkowe z ditlenkiem tytanu. W badaniach wykorzystano metody hodowlane, biochemiczne, mikroskopowe, cytometrię przepływową, spektrofotometrię i chromatografię ze spektrometrią mas. Wyniki ilościowe były oceniane statystycznie poprzez analizę wariancji (ANOVA) i weryfikowane w testach post-hoc. Oceniano morfologię i żywotność mikroorganizmów, aktywność biochemiczną, zdolność biofilmowania i aktywność biochemiczną biofilmów, a także zmiany w populacji drobnoustrojów, wytwarzanie metabolitów wtórnych oraz wpływ nanomateriałów na antagonizm promieniowców wobec drobnoustrojów testowych.

Interakcja analizowanych bakterii z nanomateriałami była zróżnicowana w zależności od danego szczepu i rodzaju nanomateriału. Stwierdzono wpływ na morfologię i żywotność komórek, w tym aglomerację komórek i nanomateriałów, rozpad komórek pod wpływem nanomateriału, a także pokrywanie powierzchni komórek nanomateriałem. Zaobserwowano również zmiany w morfologii kolonii. Nanomateriały węglowe zawierające dodatkowo nanocząstki miedzi lub kobaltu wykazywały relatywnie wyższą toksyczność wobec drobnoustrojów testowych w porównaniu z nanomateriałami niefunkcjonalizowanymi. Nanorurki węglowe z miedzią silnie oddziaływały z populacjami drobnoustrojów w badaniu cytometrycznym. Nanomateriały wpływały na kinetykę wzrostu populacji najczęściej hamując przyrost populacji, niemniej jednak w niektórych przypadkach stymulowały populacje do szybszego namnażania się. W 4-godzinnym teście toksyczności ostrej wykazano relatywnie wyższą toksyczność nanomateriałów niż w 24-godzinnym teście hodowlanym, a także możliwość stymulowania lub hamowania wzrostu populacji bakteryjnej. Wszystkie nanomateriały wykazywały toksyczność wobec promieniowców w podłożu płynnym. Nanomateriały miały też wpływ na zdolność formowania biofilmu i jego aktywność biochemiczną. Także w tym przypadku zaobserwowano efekty stymulacji i inhibicji, w zależności od badanego szczepu i nanomateriału. Nanomateriały nie przyczyniały się do lepszego przylegania komórek do powierzchni, natomiast były zatrzymywane w matrycy tworzonych biofilmów. Nanomateriały powodowały również zwiększenie sekrecji substancji fluorescencyjnych przez *Pseudomonas* spp., nie stwierdzono natomiast zmian we właściwości supernatantów do załamywania kropli w teście na wytwarzanie surfaktantów. Wszystkie nanomateriały modyfikowane nanocząstkami spowodowały nadprodukcję barwnika w przypadku jednego szczepu promieniowca. Odnotowano także zmiany w profilu antagonizmu szczepów *Streptomyces* spp. wobec referencyjnych drobnoustrojów testowych. Analiza chromatograficzna nie wykazała różnic, natomiast zaobserwowano zróżnicowanie widm masowych podczas analizy płynu pochodzącego z szczepu eksponowanego na działanie różnych wariantów tlenku grafenu.

Przeprowadzone badania wykazały szereg zależności w oddziaływaniach nanomateriałów z bakteriami referencyjnymi i środowiskowymi z rodzajów *Pseudomonas* i *Streptomyces*, które mogą mieć duże znaczenie zarówno dla środowiska naturalnego, jak i biotechnologii oraz nowoczesnego rolnictwa. Zaprezentowane zostały ponadto możliwości rozszerzenia badań o nowe aspekty, ze szczególnym uwzględnieniem technik molekularnych i skriningowych.