

University of South Bohemia

Faculty of Science

Rigorózní práce

Fungal Bioremediation of Creosote-contaminated Soil

Mgr. Marius Byss

České Budějovice 2008

University of South Bohemia
Faculty of Science
Department of Ecosystem Biology
České Budějovice
Czech Republic



Rigorózní práce

Fungal Bioremediation of Creosote-contaminated Soil

Mgr. Marius Byss

Supervisors: **Doc. Ing. Jan Tříška, CSc.**

Laboratory of Environmental Analytical Chemistry, Institute of Systems
Biology and Ecology, AS CR, v.v.i.

RNDr. Dana Elhottová, Ph.D.

Institute of Soil Biology, Biology Centre of the AS CR, v.v.i.

České Budějovice 2008

Rigorózní práce

Byss, M., 2008: Fungal Bioremediation of Creosote-contaminated Soil. RNDr. Thesis, in English - 6 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation

The influence of two ligninolytic fungi (*Pleurotus ostreatus* and *Irpex lacteus*) on bioremediation of creosote-contaminated soil was studied. The thesis describes the polycyclic aromatic hydrocarbon concentration decrease during the laboratory-scale experiments and reveals the changes in the present soil microbial community under the influence of either fungus. The thesis compares different impact on PAH concentrations and soil microbial community depending on the fungus applied.

I hereby declare that this RNDr. thesis is my own work and that, to the best of my knowledge and belief, it contains no material previously published or written by another person nor material which to a substantial extent has been accepted for the award of any other degree or diploma of the university or other institute of higher learning, except where due acknowledgement has been made in the text.

Prohlašuji, že svoji rigorózní práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění, souhlasím se zveřejněním své rigorózní práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou, elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.

V Českých Budějovicích 26.9.2008

.....
Marius Byss

Marius Byss: Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic & Laboratory of Environmental Analytical Chemistry, Institute of Systems Biology and Ecology, AS CR, České Budějovice, Czech Republic.

© Marius Byss 2008

Acknowledgements

First of all, I would like to thank both my supervisors, Jan Tříska and Dana Elhottová, for being excellent advisors. I thank especially for the ideas, experience, supportive attitude, many inputs on scientific matters and constructive comments on writing manuscript. I also appreciate their endless toleration and patience.

I greatly acknowledge help from Petr Baldrian, who added a lot of knowledge and new direction to my work. I also thank Karel Koranda for his comprehension.

Also, I would like to express my thanks to Zdena, Kamila, and to many not mentioned people, who created such fun, friendly and easy-going atmosphere in the laboratory...

Very special thanks to all of my friends, who were always wonderful refreshment to see, talk and interact with. ☺

Nevertheless, I would like to express my gratitude to my mother, father and Přema for continuous support during my studies. ☀

Finally, I would not be as happy as I was, without Eva, and Monika. ♥

Financial support

The thesis was financially supported by the following contributions and grants:

Supportive grants of Faculty of Science, University of South Bohemia

Research Intention of Institute of Systems Biology and Ecology, AS CR

(No. AV0Z60870520)

Research Plan of the Institute of Soil Biology, AS CR (No. AV0Z60660521)

Grant of Ministry of Education CR (No. LC 06066).

Co-author agreement

We hereby declare that Marius Byss had a major contribution to the following paper.

.....

Jan Tříska

.....

Dana Elhottová

.....

Petr Baldrian

BYSS, M., ELHOTTOVÁ, D., TRÍSKA, J., BALDRIAN, P.

Fungal Bioremediation of the Creosote-contaminated Soil: Influence of *Pleurotus ostreatus* and *Irpex lacteus* on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Removal and Soil Microbial Community Composition in the Laboratory-scale Study.

CHEMOSPHERE (2008). DOI:10.1016/j.chemosphere.2008.07.030.

Abstract

The aim of this study was to determine the efficacy of selected basidiomycetes in the removing of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) from the creosote-contaminated soil. Fungi *Pleurotus ostreatus* and *Irpex lacteus* were supplemented with creosote-contaminated (50-200 mg.kg⁻¹ PAH) soil originating from a wood-preserving plant and incubated at 15 °C for 120 d. Either fungus degraded PAH with 4-6 aromatic rings more efficiently than the microbial community present initially in the soil. PAH removal was higher in *P. ostreatus* treatments (55-67%) than in *I. lacteus* treatments (27-36%) in general. *P. ostreatus* (respectively *I. lacteus*) removed 86-96% (47-59%) of 2-rings PAH, 63-72% (33-45%) of 3-rings PAH, 32-49% (9-14%) of 4-rings PAH and 31-38% (11-13%) of 5-6-rings PAH. MIS (Microbial Identification System) Sherlock analysis of the bacterial community determined the presence of dominant Gram-negative bacteria (G-) *Pseudomonas* in the inoculated soil before the application of fungi. Complex soil microbial community was characterized by phospholipid fatty acids analysis followed by GC-MS-MS. Either fungus induced the decrease of bacterial biomass (G- bacteria in particular), but the soil microbial community was influenced by *P. ostreatus* in a different way than by *I. lacteus*. The bacterial community was stressed more by the presence of *I. lacteus* than *P. ostreatus* (as proved by the ratio of the fungal/bacterial markers and by the ratio of *trans/cis* mono-unsaturated fatty acids). Moreover, *P. ostreatus* stimulated the growth of Gram-positive bacteria (G+), especially actinobacteria and these results indicate the potential of the positive synergistic interaction of this fungus and actinobacteria in creosote biodegradation.

Abstrakt (překlad do českého jazyka)

Cílem této práce bylo zjistit efektivitu degradace polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU) pocházejících z půdy znečištěné kreozotovým olejem u vybraných basidiomycet. Houby *Pleurotus ostreatus* a *Irpex lacteus* rostly na půdě znečištěné kreozotovým olejem o koncentraci 50-200 mg.kg⁻¹ PAU, pocházející z dřevozpracujícího

závodu, po dobu 120 dní při 15 °C. Obě houby degradovaly PAU s 4-6 aromatickými kruhy efektivněji než půdní mikrobiální společenstvo přítomné v půdě. Celkově, *P. ostreatus* degradoval více PAU (55-67%) než *I. lacteus* (27-36%). *P. ostreatus* (respektive *I. lacteus*) degradoval 86-96% (47-59%) PAU s dvěma aromatickými kruhy, 63-72% (33-45%) PAU s třemi aromatickými kruhy, 32-49% (9-14%) PAU se čtyřmi aromatickými kruhy and 31-38% (11-13%) PAU s 5-6 aromatickými kruhy. Analýza MIS (Microbial Identification System) Sherlock půdního mikrobiálního společenstva prokázala přítomnost dominantního G- kmene *Pseudomonas* v půdě před aplikací hub. Půdní mikrobiální společenstvo bylo charakterizováno analýzou fosfolipidických mastných kyselin následovanou GC-MS-MS. Obě houby způsobily pokles bakteriální biomasy (zejména G- bakterií), ale celkově bylo půdní mikrobiální společenstvo ovlivněno každou houbou jinak. Bakteriální společenstvo bylo více stresováno přítomností *I. lacteus* než *P. ostreatus* (což bylo prokázáno pomocí poměru houbových/bakteriálních markerů a poměrem mezi *trans/cis* formami nenasycených mastných kyselin). *P. ostreatus* navíc stimuloval růst G+ bakterií, zvláště aktinobakterií a tyto výsledky naznačují potenciál pozitivních synergických interakcí mezi touto houbou a aktibakteriemi při degradaci kreozotového oleje.

Marius Byss had a major (approx. over 70%) contribution to this paper.

Published in **CHEMOSPHERE** (2008). DOI:10.1016/j.chemosphere.2008.07.030.