



**UNIWERSYTET
WARMIŃSKO-MAZURSKI
W OLSZTYNIE**



WYDZIAŁ GEOINŻYNIERII

Dziedzina nauk inżynieryjno-technicznych

Dyscyplina inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka

mgr inż. Izabela Paulina Świca

Rozprawa doktorska

**Wykorzystanie biomasy mikroglonów i sinic do nawożenia symulantów regolitów
marsjańskich i księżycowych**

**Using microalgae and cyanobacteria biomass to fertilize Martian and lunar regolith
simulants**

Praca wykonana w Katedrze Inżynierii Środowiska

Promotorzy:

prof. dr hab. inż. Marcin Dębowski, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Katedra Inżynierii Środowiska

prof. dr hab. inż. Mariusz Jerzy Stolarski, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Katedra Genetyki Hodowli Roślin i Inżynierii Biosurowców

Olsztyn, 2025

Spis treści

Streszczenie	4
Abstract.....	5
1. Wprowadzenie.....	6
2. Stan wiedzy	10
2.1. Mikroglony i sinice - charakterystyka ogólna.....	10
2.2. Potencjał wykorzystania mikroglonów i sinic w energetyce	13
2.2.1. Wytwarzanie biodiesla	13
2.2.2. Wytwarzanie bioetanolu	14
2.2.3. Wytwarzanie biowodoru.....	15
2.2.4. Wytwarzanie biometanu	17
2.2.5. Procesy termicznego przekształcania.....	17
2.3. Potencjał wykorzystania mikroglonów i sinic w inżynierii środowiska.....	18
2.3.1. Oczyszczanie ścieków	18
2.3.2. Biosekwestracja ditlenku węgla	20
2.3.3. Oczyszczanie gazów odlotowych.....	21
2.4. Zastosowanie mikroglonów i sinic w rolnictwie	23
2.4.1. Biologiczna warstwa glebowa.....	23
2.4.2. Biostymulacja.....	24
2.4.3. Biologiczna ochrona roślin.....	27
2.4.4. Bionawożenie	29
2.5. Badania nad mikroorganizmami w przestrzeni kosmicznej	32
2.6. Regolity marsjańskie i księżycowe oraz ich symulanty - właściwości i zastosowanie	37
2.6.1. Regolit marsjański.....	37
2.6.2. Regolit księżycowy	39
2.6.3. Symulanty regolitu	41
2.7. Sposoby nawożenia symulantów regolitów i ich porównanie	43
2.8. Rośliny wskaźnikowe	46
3. Cel, hipotezy i zakres badań.....	48
4. Metodyka badań	49
4.1. Ogólna koncepcja badań	49
4.2. Materiały	51
4.2.1. Mikroglony i sinice	51
4.2.2. Syntetyczne i rzeczywiste ścieki bytowe	52

4.2.3.	Roślina wskaźnikowa	53
4.2.4.	Podłoże kontrolne oraz symulanty regolitów marsjańskich i księżycowych.....	53
4.3.	Stanowisko badawcze	55
4.3.1.	Fotobioreaktory do produkcji biomasy mikroglonów i sinic	55
4.3.2.	Doświadczenie wazonowe	56
4.4.	Stosowane procedury eksperymentalne	57
4.4.1.	Hodowla <i>C. vulgaris</i> i <i>A. platensis</i>	57
4.4.2.	Przygotowanie biomasy <i>C. vulgaris</i> i <i>A. platensis</i> do nawożenia.....	59
4.4.3.	Przygotowanie symulantów regolitów	61
4.4.4.	Nawożenie podłoży	62
4.4.5.	Uprawa rośliny wskaźnikowej	63
5.	Metody analityczne	66
5.1.	Medium hodowlane	66
5.2.	Biomasa mikroglonów i sinic	66
5.3.	Symulanty regolitów	67
5.4.	Roślina wskaźnikowa.....	67
5.5.	Metody statystyczne.....	67
6.	Wyniki badań i dyskusja	69
6.1.	ETAP 1	69
6.1.1.	Efektywność przyrostu biomasy mikroglonów i sinic	69
6.1.2.	Charakterystyka biomasy <i>C. vulgaris</i> i <i>A. platensis</i>	80
6.1.3.	Charakterystyka podłoża kontrolnego oraz symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych	85
6.2.	ETAP 2	86
6.2.1.	Nawożenie biomasą <i>C. vulgaris</i>	86
6.2.2.	Nawożenie biomasą <i>A. platensis</i>	108
7.	Podstawowe założenia techniczno-technologiczne.....	125
8.	Podsumowanie i wnioski końcowe	129
9.	Literatura	132
10.	Spis tabel.....	162
11.	Spis rysunków.....	163

Streszczenie

Słowa kluczowe: mikroglony, regolit, uprawa roślin, systemy podtrzymywania życia, biomasa

Rozwój technologii dla długoterminowych misji kosmicznych wymaga tworzenia zamkniętych systemów podtrzymywania życia (BLSS), umożliwiających produkcję żywności, oczyszczanie powietrza i recykling odpadów. Mikroglony i sinice, dzięki zdolności do fotosyntezy, sekwestracji CO₂, produkcji tlenu i przetwarzania związków biogennych, stanowią kluczowy element takich systemów.

Celem badań było określenie możliwości zastosowania biomasy mikroglonów *Chlorella vulgaris* oraz sinic *Arthrospira platensis*, wyhodowanych na medium opartym na ściekach bytowych, do nawożenia symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych. Ocena skuteczności tego podejścia została przeprowadzona na podstawie analizy plonów sałaty masłowej (*Lactuca sativa* L.), wybranej jako roślina wskaźnikowa.

Wykorzystano sześć różnych symulantów, w tym formy modyfikowane magnetycznie i użyte w poprzednich cyklach upraw. Oceniono wydajność hodowli mikroorganizmów w fotobioreaktorach, skuteczność usuwania zanieczyszczeń oraz właściwości nawozowe biomasy.

W większości analizowanych przypadków odnotowano istotne zwiększenie plonu rośliny wskaźnikowej po aplikacji biomasy, szczególnie przy dawce do 10 g/kg s.m. Brak korzystnego efektu nawożenia w przypadku jednego z symulantów regolitu marsjańskiego (MGS-1) przypisano jego składowi chemicznemu, zwłaszcza obecności nadchloranów i soli wpływających negatywnie na rozwój roślin. Wykazano także, że magnetyczna separacja i ponowne użycie podłoża poprawiają jego właściwości i wydajność upraw. Badania te są pionierskie i łączą biotechnologię, inżynierię środowiska i astrobiologię, otwierając nowe kierunki dla rolnictwa pozaziemskiego.

Abstract

Keywords: microalgae, regolith, plant cultivation, life support systems, biomass

The development of technologies for long-term space missions requires the creation of closed bioregenerative life support systems (BLSS) capable of ensuring food production, air revitalization, and waste recycling. Microalgae and cyanobacteria are the key components of such systems due to their ability to photosynthesise, sequester CO₂, produce oxygen, and assimilate biogenic compounds.

This study aimed to evaluate the feasibility of utilizing the biomass of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* cultivated on a medium derived from municipal wastewater as a biofertilizer for Marian and lunar regolith simulant. The effectiveness of this approach was evaluated using the growth performance of lettuce (*Lactuca sativa* L.), which was selected as a model plant.

Six regolith simulants were tested, including magnetically modified substrates and those already used in previous cultivation cycles. The parameters evaluated included the productivity of algae cultivation in photobioreactors, the efficiency of pollutant removal, and the fertilizing potential of the resulting biomass.

In most cases, a significant increase in lettuce yield was observed after biomass application, especially at a dosage of up to 10 g/kg dm. The lack of a positive fertilizing effect with one of the Martian regolith simulants (MGS-1) was attributed to its specific chemical composition, in particular the presence of perchlorates and salts, which are known to inhibit plant development. In addition, magnetic separation and reutilisation of the substrate were shown to improve the physicochemical properties of the growth medium and the overall performance of the plants.

These ground-breaking investigations combine biotechnology, environmental engineering, and astrobiology and offer new insights into extraterrestrial agriculture.

1. Wprowadzenie

W licznych publikacjach naukowych wykazano, że działalność antropogeniczna, związana z intensywną eksploatacją zasobów naturalnych prowadzi do zanieczyszczenia i degradacji środowiska, co bezpośrednio przyczynia się do zmian klimatycznych i spadku bioróżnorodności (Muluneh, 2021). Nieograniczone wykorzystanie paliw kopalnych, w tym konwencjonalnych nośników energii, pozostaje w sprzeczności z fundamentalnymi zasadami zrównoważonego rozwoju (Azni i in., 2023). Każdego roku wyznaczana jest data tzw. Dnia Długu Ekologicznego (ang. Ecological Debt Day, EDD), który symbolizuje moment, w którym globalne zużycie zasobów naturalnych przekracza zdolność Ziemi do ich odtworzenia w skali rocznej. W 2025 roku przypadnie on 24 lipca, podczas gdy w 2024 roku był to 1 sierpnia, w 2023- 2 sierpnia, a w 2022- 28 lipca (Overshoot Footprint Network). Obserwowana tendencja wskazuje na coraz szybsze przekraczanie granic odnawialności zasobów, co istotnie ogranicza czas niezbędny środowisku do regeneracji. Wobec tego konieczne staje się poszukiwanie kompromisu między rozwojem cywilizacyjnym a koniecznością ochrony zasobów naturalnych. Jest to kluczowe założenie polityki zrównoważonego rozwoju (Matyka i in., 2024), która dąży do opracowania rozwiązań umożliwiających zaspokojenie potrzeb obecnych i przyszłych pokoleń przy jednoczesnym ograniczeniu ryzyka nieodwracalnych zmian środowiskowych (Ruggerio, 2021).

Zasady gospodarki przyjaznej środowisku naturalnemu zyskują szczególne znaczenie również w kontekście eksploracji przestrzeni kosmicznej. W trakcie planowania i realizacji misji poza Ziemią, konieczne jest unikanie powielania błędów, które na naszej planecie doprowadziły do globalnego kryzysu ekologicznego. Dlatego przyszłe działania związane z kolonizacją Księżyca, Marsa lub innych ciał niebieskich powinny być prowadzone w oparciu o zasady gospodarki cyrkularnej - zorientowanej na efektywne zarządzanie zasobami, recykling, odzysk surowców oraz minimalizację ilości powstających odpadów (Bahlmann i in., 2024; Palmroth i in., 2021). Tylko takie podejście może zapewnić długoterminową samowystarczalność przyszłych kolonii pozaziemskich, przy jednoczesnym ograniczeniu ich wpływu na nowe środowiska.

W świetle coraz intensywniej dyskutowanych planów zasiedlania innych planet, niezbędne staje się wykorzystanie dostępnej wiedzy i doświadczenia w celu opracowania technologii minimalizujących negatywny wpływ człowieka na środowisko naturalne. Kluczowym elementem tego procesu jest poszukiwanie innowacyjnych, przyjaznych środowisku metod pozyskiwania i wykorzystywania zasobów, w szczególności składników

odżywczych dla upraw rolniczych. Rozwiązania te powinny ograniczać zużycie nieodnawialnych surowców, redukować emisję szkodliwych związków do środowiska oraz minimalizować ilość generowanych odpadów.

W tym kontekście, bardzo obiecującą alternatywę stanowi zastosowanie mikroglonów i sinic, zarówno w rolnictwie ziemskim, jak i w przyszłych systemach produkcji żywności w warunkach pozaziemskich. Wykazano, że te mikroorganizmy charakteryzują się wysoką odpornością na trudne i zmienne warunki środowiskowe, zdolnością do asymilacji zanieczyszczeń o różnym pochodzeniu oraz dużym potencjałem adaptacyjnym (Kumar i in., 2022). Ponadto ich biomasa może być wykorzystana wielokierunkowo - jako źródło nawozów, żywności, a także biopaliw. Zastosowanie mikroglonów wpisuje się zatem w ideę zrównoważonego i cyrkularnego zarządzania zasobami, stanowiąc perspektywiczną technologię wspierającą rozwój nowoczesnego, ekologicznego rolnictwa - zarówno na Ziemi, jak i w przestrzeni kosmicznej.

Podbój i eksploracja odległych planet od dawna stanowiły przedmiot fascynacji ludzkości, inspirując do prowadzenia badań naukowych oraz opracowywania zaawansowanych technologii umożliwiających funkcjonowanie w przestrzeni kosmicznej. W ostatniej dekadzie, dzięki intensywnemu postępowi technologicznemu, coraz bardziej realna staje się nie tylko możliwość wysyłania sond kosmicznych (Soffen, 1976), łazików (Bhattarai i in., 2022; Lorenz i in., 2021) oraz astronautów (Erickson, 2020; Iqbal i in., 2024) na inne ciała niebieskie, ale również ich przyszłe zasiedlanie (Konečný i in., 2023) oraz terraformacja (Fletcher i in., 2024) (Vaz i Penfound, 2020). Przykładem kluczowego przedsięwzięcia w zakresie eksploracji pozaziemskiej jest realizowany przez NASA (National Aeronautics and Space Administration- Narodowa Agencja Aeronautyki i Przestrzeni Kosmicznej) program Artemis, którego celem jest powrót człowieka na księżyc i ustanowienie podstaw dla zrównoważonych badań jego powierzchni. Misja Artemis I, będąca bezzałogowym testem statku kosmicznego Orion, została pomyślnie zrealizowana 16 listopada 2022 r. z wykorzystaniem rakiety Space Launch System (SLS) (Harmon i in., 2023). Kolejnym etapem będzie misja Artemis II, zakładająca pierwszy załogowy lot testowy statku Orion, planowany na kwiecień 2026 r. Finalnie, misja Artemis III, przewidziana na drugą połowę 2027 r., ma zakończyć się lądowaniem człowieka na powierzchni Księżyca, zaś Artemis IV będzie pierwszą w dziejach ludzkości stacją kosmiczną na Księżycu (Creech i in., 2022).

Kolonizacja innych planet oraz prowadzenie długoterminowych misji kosmicznych stanowią jedno z największych wyzwań współczesnej nauki i technologii. Eksploracja Księżyca, Marsa oraz w dalszej perspektywie bardziej odległych obszarów Układu

Słonecznego napotyka na szereg ograniczeń technicznych, biologicznych i środowiskowych (Dobney i in., 2023). Jednym z kluczowych problemów jest to, iż regolit będący odpowiednikiem gleby na ciałach niebieskich nie nadaje się do prowadzenia działalności rolniczej (Ding i in., 2024). Regolit to nieskonsolidowana warstwa luźnego materiału pokrywająca powierzchnię ciał niebieskich, takich jak planety, księżyce, asteroidy i komety. Składa się z drobnoziarnistych skał, minerałów, pyłu oraz, w niektórych przypadkach, domieszek lodu i materii organicznej. Powstaje w wyniku długotrwałych procesów wietrzenia mechanicznego i chemicznego, oddziaływania promieniowania kosmicznego oraz bombardowania mikrometeoritami, które stopniowo rozdrabniają skały macierzyste (Kaczmarzyk, 2024). Prowadzenie efektywnej uprawy roślin jest natomiast warunkiem koniecznym dla zapewnienia autonomii i długoterminowej stabilności przyszłych habitatów kosmicznych (Pluchon i in., 2024). Produkcja roślinna na jałowym regolicie stanowi poważne wyzwanie ze względu na jego ubogi skład chemiczny i ograniczoną dostępność składników odżywczych i jałowy charakter.

Gleba ziemska pełni wiele istotnych funkcji. Stanowi nie tylko fizyczne podłoże uprawne, lecz także dostarcza roślinom makro- i mikroelementów, stabilizuje pH, wspiera aktywność mikrobiologiczną oraz umożliwia rozwój symbiotycznych mikroorganizmów, takich jak bakterie wiążące azot czy grzyby mikoryzowe (Żuchowska-Grzywacz, 2024). W przeciwieństwie do niej, regolit wykazuje prostą strukturę fizyczno-chemiczną oraz ubogie właściwości biologiczne, co uniemożliwia jego bezpośrednie wykorzystanie w rolnictwie (Eichler i in., 2021). Dlatego jego przystosowanie do produkcji żywności wymaga zaawansowanych działań modyfikacyjnych, obejmujących zabiegi mechaniczne, fizykochemiczne oraz biologiczne (Fackrell i in., 2021). Istotnym wyzwaniem jest zatem opracowanie skutecznych metod nawożenia oraz poprawy właściwości takich podłoży.

Jednym z najbardziej obiecujących kierunków badań jest zastosowanie biomasy mikroglonów i sinic, wykorzystywanych w bioregeneracyjnych systemach podtrzymywania życia (BLSS - Bioregenerative Life Support Systems) (Liu i in., 2016). Systemy te, projektowane z myślą o długotrwałej obecności człowieka w przestrzeni kosmicznej, integrują procesy biologiczne w celu zapewnienia zamkniętego obiegu materii. Dotychczasowe badania wykazały, że mikroglony i sinice w BLSS mogą pełnić wielofunkcyjną rolę - od produkcji tlenu, przez oczyszczanie ścieków, po wytwarzanie biomasy, która może być wykorzystywana jako nawóz (Osorio-Reyes i in., 2023), źródło pożywienia (Naik i in., 2024) suplementów diety (Laamanen i in., 2021), biopaliw (Bora i in., 2024) czy surowiec budowlany (Nur i Dewi, 2024). Zdolność tych mikroorganizmów do przetrwania w ekstremalnych warunkach

środowiskowych, a także ich szybki wzrost i możliwość recyklingu składników odżywczych sprawiają, że stanowią one niezwykle cenny element strategii zrównoważonego rolnictwa kosmicznego.

Zastosowanie mikroglonów i sinic jako źródła bioproduktów w systemach BLSS otwiera nowe perspektywy dla rozwoju technologii wspierających życie poza Ziemią. Ich integracja z procesami poprawy właściwości regolitu może umożliwić stworzenie funkcjonalnych, zamkniętych systemów produkcji żywności, minimalizujących zapotrzebowanie na zewnętrzne dostawy zasobów oraz ograniczających wpływ człowieka na środowiska pozaziemskie.

2. Stan wiedzy

2.1. Mikroglony i sinice - charakterystyka ogólna

Głony to grupa organizmów, w tym jednokomórkowych mikroglonów, które należą do różnorodnych grup taksonomicznych, w tym zielenic (*Chlorophyta*) i zaliczanych przez wielu badaczy sinic (*Cyanobacteria*) posiadających zdolność do fotosyntezy oraz produkcji różnorodnych substancji bioaktywnych (Cavalier-Smith, 2004). W ostatnich latach zainteresowanie wykorzystaniem zielenic oraz sinic znacznie wzrosło. Spowodowane jest to nie tylko trendami dotyczącymi suplementacji i zdrowego odżywiania (Fang i in., 2023), ale także rosnącym globalnym zaludnieniem, a tym samym zwiększonym zapotrzebowaniem na pożywienie (Sadigov, 2022). Jak podaje raport wykonany przez Credance Research Market Analysis wartość światowego rynku produktów z mikroglonów na rok 2021 wyniosła 4,5 mld dolarów, przy czym prognoza na rok 2028 przewiduje wzrost nawet do 6,3 mld dolarów (Noga i Kochman-Kędziora, 2023).

Zielenice i sinice charakteryzują się wysoką zawartością białka (*Spirulina* sp. ok. 70%, *Chlorella* sp. ok. 60%). Zawierają także aminokwasy (leucyna, lizyna, metionina, fenyloalanina, treonina) oraz witaminy (A, B₂, B₆, B₁₂, D, E, K) co sprawia, że znajdują szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym (Noga i Kochman-Kędziora, 2023). W składzie chemicznym znajdują się także węglowodany (skrobia, celuloza oraz inne cukry redukujące), tłuszcze (głównie glikolipidy, woski, węglowodory, fosfolipidy i kwasy tłuszczowe), które syntetyzowane są w chloroplastach (Coronado-Reyes i in., 2022). Produktami metabolizmu mikroglonów są także barwniki (β -karoteny, astaksantyna, kantaksantyna, luteina, chlorofil a i b, feofityna a i b oraz wioloksantyna) (Coronado-Reyes i in., 2022). W kontekście zielenic, chlorofil a i chlorofil b są charakterystycznymi barwnikami, które pozwalają na efektywną fotosyntezę. Sinice z kolei produkują fikobiliny, takie jak fikocyjanina, nadające im niebiesko-zieloną barwę czy fikoerytryna odpowiadająca za barwę czerwoną (Lu i in., 2024). Zawartość chlorofilu w suchej masie wynosi 1-2% (Coronado-Reyes i in. 2022).

Obecnie obserwuje się także wzrost potencjału wykorzystania mikroglonów i sinic jako nawozów w rolnictwie (Noga i Kochman-Kędziora, 2023). Charakteryzują się występowaniem w biomasie minerałów (P, K, Fe, Na) (Schroeder i in., 2013), które są kluczowymi pierwiastkami biogennymi odpowiadającymi za prawidłowy wzrost roślin. Zielenice oraz sinice zawierają fitohormony (auksyny, cytokininy i gibereliny), które wpływają na wzrost roślin poprzez stymulowanie podziałów komórkowych oraz rozwoju korzeni (Coronado-Reyes i in., 2022). Prezentowane przez badaczy dane wskazują, że aplikacja roślin ekstraktami z

Chlorella sp. wpływa na wzrost plonów i lepszą kondycję zdrowotną roślin (Garcia-Gonzalez i Sommerfeld, 2016). Aminokwasy pochodzące z mikroglonów takie jak prolina, glicyna i kwas glutaminowy, wspierają rośliny w procesach metabolicznych oraz poprawiają tolerancję roślin na stres abiotyczny (Coronado-Reyes i in., 2022).

Mikroglony i cyjanobakterie posiadają zdolność do przetrwania w ekstremalnych warunkach, dlatego nazywane są mikroorganizmami ekstremofilnymi (Rojas-Villalta i in., 2024). Występowanie sinic obserwowano w okolicach gorących źródeł, gdzie mogą żyć w wodach o temperaturach przekraczających 70°C (Jasser i in., 2022; Rybak i in., 2024). Mikroglony występują także na pustyniach, gdzie są zdolne przetrwać w stanie spoczynku (Rojas-Villalta i in., 2024; Zhao i in., 2023) a także w glebie i na wilgotnych skałach (Keshari i Adhikary, 2014) oraz lodowcach (Davey i in., 2019). Badania przeprowadzone ponad 30 lat temu w rejonach Antarktydy ujawniły, że sinice *Oscillatoriaceae* występowały w gruncie do 8 cm pod powierzchnią terenu (Davey i Clarke, 1991).

Mikroglony charakteryzują się wysoką zdolnością adaptacyjną do trudnych i zmiennych warunków środowiskowych, co czyni je odpowiednim materiałem biologicznym do zastosowań w procesach oczyszczania ścieków (Abdelfattah i in., 2023). Ich tolerancja na szerokie spektrum parametrów fizykochemicznych, takich jak zmienne wartości pH czy wysokie stężenia zanieczyszczeń, umożliwia skuteczne usuwanie zarówno związków organicznych, jak i nieorganicznych z wód odpadowych (Yu i in., 2022). Mikroglony wykazują zdolność do bioakumulacji i asymilacji związków azotu i fosforu, a także metali ciężkich, wykorzystując je jako substraty odżywcze w procesach metabolicznych (Yousefi i in., 2023). W rezultacie przyczyniają się do redukcji ładunku zanieczyszczeń, jednocześnie generując biomasę, która może być wykorzystywana jako surowiec do produkcji bioproduktów o wysokiej wartości (Alazaiza i in., 2023).

Ze względu na swoje właściwości, mikroglony i sinice stanowią istotny zasób gospodarczy i biotechnologiczny. Ich biomasa może być źródłem związków bioaktywnych, wykorzystywanych m.in. w produkcji bionawozów (Zhang i in., 2024), biostymulantów (Prisa i Spagnuolo, 2023), a także w przemyśle spożywczym (Guo i in., 2024), bioremediacji (Calatrava i in., 2024) oraz w procesach wytwarzania biopaliw (Kisiełewska i in., 2023). Dodatkową zaletą ich wykorzystania jest zdolność do biosekwestracji dwutlenku węgla, która odgrywa istotną rolę w ograniczaniu emisji gazów cieplarnianych. W wyniku fotosyntezy mikroglony absorbują CO₂ z atmosfery, przekształcając go w biomasę i uwalniając tlen jako produkt uboczny (Xu i in., 2019). Zgodnie z podstawowym równaniem fotosyntezy, do wytworzenia 1 kg biomasy mikroglonów konieczne jest zużycie około 1,8 kg CO₂ (Cardias i

in., 2023), przy jednoczesnej emisji tlenu w ilości 1,50-1,92 kg O₂ na każdy kilogram wyprodukowanej biomasy. Ponadto, w warunkach oczyszczania ścieków, tempo utleniania materii organicznej z udziałem mikroglonów osiąga wartości w zakresie 0,48-1,85 kg O₂/m³·d (Dolganyuk i in., 2020). W porównaniu z roślinami wyższymi, mikroglony cechują się znacznie szybszym tempem wzrostu oraz wyższą wydajnością fotosyntetyczną, co umożliwia efektywne wychwytywanie większych ilości CO₂ w krótszym czasie. Efekt ten prowadzi do generowania znacznych ilości biomasy, która może zostać wykorzystana jako surowiec w zrównoważonej produkcji nawozów, paliw, żywności i innych produktów o znaczeniu ekologicznym i przemysłowym (Tan i in., 2020).

Charakterystyka mikroglonów i sinic, obejmująca wysoką adaptacyjność, efektywność metaboliczną oraz zdolność do fotosyntezy, sprawia, że mikroorganizmy te znajdują zastosowanie w szerokim zakresie procesów przemysłowych (Gamal i Shreadah, 2024). Obejmują one zarówno oczyszczanie ścieków, jak i produkcję żywności, suplementów diety oraz bionawozów (Khan i in., 2018). Szczególnie istotna jest ich zdolność do konwersji energii słonecznej oraz asymilacji ditlenku węgla, co czyni je obiecującym źródłem surowca dla produkcji energii odnawialnej, w tym biopaliw trzeciej generacji (Rafa i in., 2021). Technologie te wspierają rozwój przemysłu w kierunku zwiększenia efektywności energetycznej oraz redukcji emisji gazów cieplarnianych, zgodnie z zasadami zrównoważonego rozwoju (Olabi i in., 2023).

W ostatnich latach mikroglony zyskują również na znaczeniu w kontekście eksploracji kosmosu, zwłaszcza w odniesieniu do długoterminowych misji załogowych (Revellame i in., 2021). Ich zdolność do biosekwestracji CO₂ oraz generowania tlenu w procesie fotosyntezy stawia je w roli kluczowego komponentu systemów podtrzymywania życia w środowiskach zamkniętych (Revellame i in., 2024). Przykładem zastosowania tej technologii jest system MELiSSA (Micro-Ecological Life Support System Alternative), rozwijany przez Europejską Agencję Kosmiczną (ESA), który zakłada wykorzystanie mikroglonów jako jednego z ogniw w zamkniętym obiegu materii i energii (Lasseur i in., 2010). W tym kontekście mikroglony stanowią nie tylko innowacyjne narzędzie biotechnologiczne dla rozwiązywania problemów środowiskowych na Ziemi, lecz także integralny element strategii zapewnienia autonomicznego i zrównoważonego funkcjonowania załogowych misji kosmicznych poza naszą planetą.

2.2. Potencjał wykorzystania mikroglonów i sinic w energetyce

Ogólny podział nośników bioenergii opiera się na pochodzeniu substratu wykorzystywanego do produkcji biomasy oraz na zastosowanej technologii jej przetwarzania (Mignogna i in., 2024). W literaturze przedmiotu wyróżnia się cztery generacje biopaliw. Biopaliwa pierwszej generacji produkowane są z surowców pochodzenia rolniczego, które znajdują zastosowanie w sektorze spożywczym, takich jak kukurydza, trzcina cukrowa, rzepak czy soja (Martin, 2010). Biopaliwa drugiej generacji pozyskiwane są z materiałów niewchodzących w bezpośrednią konkurencję z produkcją żywności, w tym z odpadów rolniczych (np. słoma, łuski nasienne), odpadów pochodzenia leśnego (np. trociny, lignoceluloza), a także z dedykowanych upraw wieloletnich roślin energetycznych (Janusch i in., 2021; Stolarski i in., 2019, 2020, 2022). Z kolei biopaliwa trzeciej generacji bazują na mikroglonach, które dzięki wysokiej produktywności biomasy, zdolności do akumulacji lipidów oraz niewielkim wymaganiom przestrzennym i środowiskowym stanowią szczególnie perspektywiczne źródło bioenergii (Chaos-Hernández i in., 2023; Debnath i in., 2021). Najbardziej zaawansowaną kategorię stanowią biopaliwa czwartej generacji, w których wykorzystuje się nowoczesne technologie biotechnologiczne, w tym inżynierię genetyczną, do modyfikacji mikroorganizmów i roślin w celu zwiększenia efektywności konwersji biomasy oraz wychwytywania i sekwestracji ditlenku węgla podczas procesu produkcyjnego, co przekłada się na znaczne ograniczenie emisji gazów cieplarnianych (Abdullah i in., 2019). Mikroglony uznawane są za jedno z najbardziej obiecujących źródeł biomasy dla celów energetycznych, co wynika z ich zdolności do intensywnej akumulacji lipidów, produkcji wodoru w warunkach fotobiologicznych, wytwarzania biogazu w wyniku beztlenowej degradacji biomasy, a także możliwości ich wykorzystania w procesach termochemicznego przekształcania (Aliyu i in., 2021). Ich wysoka wydajność fotosyntetyczna, szybki przyrost biomasy oraz zdolność do wzrostu w zróżnicowanych warunkach środowiskowych czynią je istotnym komponentem w rozwoju innowacyjnych, zrównoważonych technologii bioenergetycznych (Parakh i in., 2023).

2.2.1. Wytwarzanie biodiesla

Mikroglony są coraz częściej postrzegane jako obiecująca alternatywa dla produkcji biopaliw, głównie ze względu na ich zdolność do akumulacji znacznych ilości lipidów, sięgających nawet 70% suchej masy biomasy (Dębowski i in., 2021; Scott i in., 2010). W licznych badaniach porównano zawartość oleju w biomasie mikroglonów i tradycyjnych roślin

oleistych (Kumar i in., 2022; Oliva i in., 2024; Zhang i in., 2022). Wyniki tych analiz wskazują, że nawet mikroglony o relatywnie niskiej zawartości lipidów (około 30%) mogą przewyższać pod względem wydajności produkcyjnej biodiesla rośliny takie jak rącznik pospolity, którego nasiona zawierają do 48% oleju (Kumar i in., 2022). Z kolei mikroglony charakteryzujące się 70% zawartością lipidów wykazują potencjał do produkcji ponad 120 ton biodiesla na hektar rocznie, co stanowi wynik blisko 800-krotnie wyższy niż w przypadku upraw kukurydzy, przy jednoczesnym ograniczeniu zapotrzebowania na powierzchnię uprawną niemal 160-krotnie (Mata i in., 2010). W badaniach przeprowadzonych przez (Dębowski i in., 2020) oceniano wykorzystanie odcieku po fermentacji ścieków mleczarskich jako pożywki do hodowli mikroglonów (głównie *Chlorella* sp. i *Scenedesmus* sp.) w celu produkcji biooleju. Uzyskano stężenie biomasy wynoszące $3000 \pm 10,5$ mg s.m./dm³ przy tempie wzrostu $160 \pm 6,6$ mg s.m./dm³·d i zawartości lipidów $17,8\% \pm 2,1\%$. Efektywność oczyszczania fermentatu była wysoka: usunięcie ChZT -90%, BZT₅ - 95%, azotu ogólnego i amonowego - 99%, fosforu - 98-99%. Bioolej zawierał 63,15% kwasu oleinowego.

2.2.2. Wytwarzanie bioetanolu

Niektóre szczepy mikroglonów z rodzajów takich jak *Spirulina* sp., *Chlamydomonas* sp. czy *Chlorella* sp., charakteryzują się wysoką zawartością glikogenu, który może stanowić ponad 50% suchej masy biomasy (Aikawa i in., 2012). Zmagazynowany glikogen może być poddany procesowi hydrolizy enzymatycznej, prowadzącej do uzyskania glukozy, która następnie może zostać wykorzystana jako substrat w procesach fermentacji alkoholowej w celu produkcji bioetanolu (Demirbas, 2011; John i in., 2011). W badaniu przeprowadzonym przez (Condor i in., 2024) analizowano potencjał wybranych mikroglonów jako opłacalnego surowca do produkcji bioetanolu, ze szczególnym uwzględnieniem zastosowania ścieków świńskich jako źródła składników odżywczych. Najkorzystniejsze warunki hodowli obejmowały obecność 2% CO₂, 25% obj. ścieków świńskich, 500 mg/dm³ azotanu sodu, 40 mg/dm³ fosforanu dipotasu (K₂HPO₄), 75 mg/dm³ siarczanu magnezu (MgSO₄) oraz 6 mg/dm³ kwasu cytrynowego w pożywce BG-11. W takich warunkach uzyskano maksymalną akumulację węglowodanów na poziomie 60% suchej masy biomasy. Po zakończeniu hodowli biomasa została poddana hydrolizie kwasem siarkowym, a następnie wykorzystana w procesie fermentacji etanolowej, w wyniku której uzyskano wydajność produkcji bioetanolu na poziomie $0,22 \pm 0,01$ g/g biomasy. Mikroglony wykorzystywane są również w zintegrowanych procesach produkcji biodiesla i bioetanolu, co pozwala na pełniejsze wykorzystanie potencjału

biomasy (Kim i in., 2020). W przypadku gatunku *Chlorococcum* sp., lipidy zostały najpierw ekstrahowane z biomasy za pomocą nadkrytycznego CO₂ w temperaturze 60°C. Pozostała frakcja bogata w węglowodany została następnie wykorzystana jako substrat fermentacyjny przez drożdże *Saccharomyces bayanus* do produkcji bioetanolu. W tej metodzie nadkrytyczny CO₂ pełnił podwójną funkcję: jako czynnik ekstrakcyjny zarówno lipidów, jak i węglowodanów z komórek mikroglonów, umożliwiając jednocześnie pozyskiwanie surowców do produkcji różnych biopaliw w jednym etapie (Harun i in., 2010). Tego typu podejścia stanowią obiecującą strategię dla zrównoważonej i zintegrowanej produkcji biopaliw na skalę przemysłową.

2.2.3. Wytwarzanie biowodoru

Wodór, jako czysty i efektywny nośnik energii, może być pozyskiwany z biomasy mikroglonów w procesach biochemicznych, takich jak biofotoliza i fermentacja (Li i in., 2022). W procesie fotosyntezy mikroglony przekształcają wodę w jony wodorowe (H⁺) i tlen (O₂), a enzym hydrogenaza katalizuje przemianę H⁺ w cząsteczkowy wodór (H₂) (Cantrell i in., 2008). Biofotoliza bezpośrednia polega na fotosyntetycznej produkcji H₂ z wody przy wykorzystaniu energii świetlnej. Proces ten zachodzi dzięki działaniu dwóch systemów: fotosystemu I (PSI) oraz fotosystemu II (PSII). PSII odpowiada za produkcję O₂, natomiast PSI wykorzystuje elektrony do redukcji CO₂ lub przenosi je na hydrogenazę, umożliwiając produkcję wodoru (Aziz i in., 2021). Warunki beztlenowe oraz ograniczona dostępność siarki są kluczowe dla indukcji hydrogenazy i efektywnej produkcji H₂. Najkorzystniejsze warunki do produkcji wodoru w systemach komórkowych występują, gdy zawartość tlenu w środowisku jest utrzymywana poniżej 0,1% (Tamburic i in., 2011). *Chlamydomonas reinhardtii*, szeroko obecny w glebie i wodach słonawych, jest jednym z najczęściej badanych gatunków w kontekście produkcji H₂ (Tamburic i in., 2011). Badania wykazały, że wydajność jego produkcji mieści się w średnim zakresie 90-110 cm³/dm³, a w niektórych przypadkach może wynosić nawet 80-140 cm³/dm³ (Song i in., 2015) przeprowadzili badania nad produkcją wodoru przez mikroglony z gatunku *Chlorella* sp., uzyskując wyniki w zakresie od 260 do 480 cm³/dm³.

Innym biochemicznym procesem wytwarzania wodoru przez mikroglony jest pośrednia biofotoliza. Wykazano, że proces ten zachodzi w organizmach sinic, które w wyniku fotosyntezy gromadzą węglowodany powstałe na skutek redukcji CO₂. Węglowodany te następnie ulegają rozkładowi podczas fermentacji, której przebieg jest zainicjowany przez fotosystem I. Białka zawarte w tym systemie przenoszą elektrony na ferredoksynę, z wykorzystaniem energii świetlnej (Gutekunst i in., 2014). W procesie pośredniej biofotolizy

kluczową rolę odgrywają CO_2 , który działa jako nośnik elektronów i protonów powstałych w wyniku rozpadu cząsteczki wody, a także enzymy, w tym dwie hydrogenazy NiFe oraz nitrogenaza. Ta ostatnia katalizuje reakcję redukcji azotu atmosferycznego do amoniaku, z jednoczesną redukcją protonu i uwolnieniem H_2 .

Zgodnie z danymi literaturowymi, fermentacja bakteryjna stanowi jedną z najbardziej efektywnych metod biologicznej konwersji biomasy do wodoru molekularnego (Zieliński i in., 2017). Procesy te wykorzystują różnorodne substraty organiczne, obejmujące odpady pochodzenia rolniczego, spożywczego, mięsnego, papierniczego, jak również obornik, gnojowicę i ścieki komunalne (Dębowski i in., 2014).

Mechanizm beztlenowej produkcji H_2 obejmuje enzymatyczną redukcję protonów przez hydrogenazę z wykorzystaniem elektronów przekazanych przez ferredoksynę. Elektrony te uwalniane są podczas rozkładu glukozy do pirogronianu, który następnie ulega oksydacyjnej dekarboksylacji do acetylo-CoA oraz ditlenku węgla. W pracy (Kumar i Das, 2000) szczegółowo opisano mechanizmy fermentacyjnej produkcji wodoru przez szczep *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08, wykorzystując różne źródła materii organicznej. W przypadku sacharozy i celobiozy uzyskano maksymalne wydajności odpowiednio 6,0 i 5,4 mol H_2 /mol substratu przy szybkości produkcji 35,6 mmol $\text{H}_2/\text{dm}^3 \cdot \text{h}$, przy czym w kolejnych eksperymentach osiągnięto nawet 75,6 mmol $\text{H}_2/\text{dm}^3 \cdot \text{h}$. Optymalną efektywność osiągnięto przy zastosowaniu lignocelulozowych wypełniaczy reaktora, z których najkorzystniejsze rezultaty uzyskano przy wykorzystaniu włókna kokosowego, co przypisano jego dużej powierzchni aktywnej sprzyjającej adhezji i rozwojowi biomasy.

W badaniu przeprowadzonym przez (Velmozhina i in., 2023) wykazano, że mikroglony *Chlorella kessleri* wykazują zdolność do efektywnej bioremediacji ścieków podczas procesu ich uprawy. Dodatkowo, przeanalizowano wpływ różnych metod przetwarzania biomasy mikroglonów na wydajność produkcji biogazu. Najlepsze rezultaty uzyskano przy zastosowaniu obróbki kwasowej oraz termicznej. Zastosowanie promieniowania mikrofalowego przy testowanych parametrach nie przyniosło oczekiwanych rezultatów w zakresie zwiększenia wydajności biogazu. Z kolei, dodatek skrobi przyczynił się do wzrostu wydajności biowodoru. Maksymalna produkcja biowodoru wynosiła 44,24 ml/ dm^3 zawiesiny i została osiągnięta w warunkach beztlenowej fermentacji ciemnej.

Biologiczne metody pozyskiwania wodoru, takie jak biofotoliza i fermentacja biomasy, stanowią obiecującą alternatywę dla konwencjonalnych technologii. Charakteryzują się one potencjałem zachowania równowagi środowiskowej oraz możliwością wykorzystania różnorodnych gatunków mikroglonów i sinic.

2.2.4. Wytwarzanie biometanu

Potencjał mikroglonów jako substratu do produkcji biometanu jest zróżnicowany i w dużej mierze determinowany cechami gatunkowymi poszczególnych organizmów. Wykazano, że zdolność mikroglonów do produkcji biogazu jest ściśle uzależniona od przynależności gatunkowej. Jednocześnie nie zaobserwowano istotnej zależności pomiędzy klasyfikacją taksonomiczną a wydajnością procesu fermentacji beztlenowej (Dębowski i in., 2015). Przeprowadzenie fermentacji beztlenowej biomasy *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyta) pozwoliło na uzyskanie biogazu w ilości $587 \pm 8,8 \text{ cm}^3/\text{g s.m.o.}$, natomiast w przypadku *Dunaliella salina* wartość ta wynosiła $505 \pm 24,8 \text{ cm}^3/\text{g s.m.o.}$. Zastosowanie fermentacji beztlenowej dla biomasy *Arthrospira platensis* (sinice) oraz *Euglena gracilis* skutkowało odpowiednio produkcją $481 \pm 13,8 \text{ cm}^3/\text{g s.m.o.}$ oraz $485 \pm 3,0 \text{ cm}^3/\text{g s.m.o.}$ biomasy gazowej. Najniższe wartości wydajności biogazu odnotowano podczas fermentacji biomasy *Chlorella kessleri* oraz *Scenedesmus obliquus*, osiągając odpowiednio $335 \pm 7,8 \text{ cm}^3/\text{g s.m.o.}$ i $287 \pm 10,1 \text{ cm}^3/\text{g s.m.o.}$ (Mussnug i in., 2010). Inni badacze (De Schampelaire i Verstraete, 2009) przeprowadzili badania nad efektywnością procesu metanogenezy z wykorzystaniem mieszanych kultur mikroglonów słodkowodnych. W warunkach okresowej pracy reaktorów fermentacyjnych uzyskano produkcję metanu na poziomie $310 \text{ cm}^3 \text{ CH}_4/\text{g s.m.o.}$. Z kolei (Mussnug i in., 2010) ocenili potencjał metanotwórczy biomasy *Scenedesmus obliquus* oraz *A. platensis*, dla których wydajność produkcji metanu wyniosła odpowiednio $290 \pm 10 \text{ cm}^3 \text{ CH}_4/\text{g s.m.o.}$ oraz $480 \pm 10 \text{ cm}^3 \text{ CH}_4/\text{g s.m.o.}$

2.2.5. Procesy termicznego przekształcania

Jednym z obiecujących sposobów wykorzystania potencjału energetycznego biomasy mikroglonów są procesy pirolitycznej gazyfikacji (Torres i in., 2023). Udowodniono, iż piroliza w warunkach izotermicznych może prowadzić do wyższej wydajności produkcji gazu syntezowego w stosunku do alternatywnych rozwiązań (Yang i in., 2019). W eksperymentach uzyskano syngaz o zawartości wodoru osiągającej poziom 52% przy zastosowaniu katalizatorów opartych na NiZnAlO_x . Oprócz wysokiego udziału wodoru, proces ten został zoptymalizowany pod kątem minimalizacji dezaktywacji katalizatora, co stanowi istotny krok w poprawie efektywności tego procesu. Produkcja pary pirolitycznej wzrosła z 57,20% do 71,04%, a produkcja wodoru zwiększyła się z 15,31% do 40,24%, gdy zastosowano katalizator Ni-zeolitowy (Alam i in., 2024). Piroliza biomasy mikroglonów jest również efektywnym sposobem przekształcania jej w produkty energetyczne, takie jak biowęgiel (karbonizat) i olej

syntezowy (Sekar i in., 2021). Karbonizat będący stabilnym produktem węglowym, może być wykorzystywany jako materiał opałowy lub sorbent w technologiach środowiskowych zmierzających do ograniczania emisji do środowiska. W jednym z eksperymentów piroliza została przeprowadzona na suchych próbkach mikroglonów w dwóch etapach: pierwszym przy 320°C, a następnie przy 450°C. Z pierwszego etapu uzyskano frakcję olejową, w drugim natomiast olej pirolityczny oraz karbonizat (Wądrzyk i in., 2017). Z testowanej biomasy mikroglonów uzyskano od 30% do 40% biooleju, podczas gdy pozostała część stanowiła biowęgiel oraz niewielką ilość gazów (poniżej 20% masy biomasy). Proces pirolizy wspomagany katalizatorami, takimi jak HZSM-5, zwiększał wydajność konwersji do bardziej pożądaných węglowodorów (Wądrzyk i in., 2017).

Alternatywą energetycznego wykorzystania biomasy mikroglonów jest także proces spalania w warunkach nadkrytycznych, w którym biomasa jest jednocześnie podgrzewana i poddawana działaniu wysokiego ciśnienia. Eksperyment przeprowadzony z wykorzystaniem mikroglonów *Nannochloropsis* sp. wykazał, że proces ten, przeprowadzony w temperaturze powyżej 374°C i ciśnieniu powyżej 221 bar, prowadzi do efektywnej konwersji biomasy mikroglonów na gaz syntezowy, bogaty w wodór. W badaniu uzyskano 58% udziału molowego wodoru w gazie syntezowym przy temperaturze 500°C, a także wysoką efektywność procesu dla mokrej biomasy, co eliminuje konieczność jej suszenia. Cały proces charakteryzował się krótkim czasem przebywania (<5 minut) i wysoką wydajnością (Boukis i Stoll, 2021).

2.3. Potencjał wykorzystania mikroglonów i sinic w inżynierii środowiska

2.3.1. Oczyszczanie ścieków

Mikroglony znajdują również szerokie zastosowanie w procesach biologicznej degradacji zanieczyszczeń (Abdelfattah i in., 2023). Technologie oparte na wykorzystaniu mikroglonów stosuje się na drugim i trzecim stopniu oczyszczania ścieków zarówno komunalnych, jak i przemysłowych (Abdelfattah i in., 2023). Wiele badań poświęcono analizie możliwości usuwania ze ścieków związków biogennych, takich jak azot i fosfor poprzez wykorzystanie mikroglonów i sinic (Ammar i in., 2022; Sánchez-Monedero i in., 2001). W wielu pracach wykazano, iż zastosowanie ścieków jako pożywki dla tych mikroorganizmów pozwala na istotne ograniczenie kosztów hodowli, jednocześnie umożliwiając usuwanie zanieczyszczeń oraz efektywny odzysk składników biogennych (Abinandan i Shanthakumar, 2015).

Asymilacja pierwiastków biogennych jest niezbędna w aspekcie syntezy białek, tworzenia fosfolipidów i kwasów nukleinowych przez mikroglony (Maltsev i in., 2021). (Almomani i in., 2019) wykazali, że mikroglony wykazują bardzo wysoką skuteczność w usuwaniu azotu i fosforu, osiągając efektywność na poziomie 99%. (Tran i in., 2020) badali potencjał wzrostu oraz usuwania składników odżywczych przez *Chlorella variabilis* w systemie reaktorów zewnętrznych, wykorzystując ścieki komunalne. Najlepsze warunki dla wzrostu i efektywnego usuwania składników pokarmowych obejmowały stosunek N:P wynoszący 15:1, wydajność napowietrzania 0,2 dm³/min oraz stężenie CO₂ w medium hodowlanym na poziomie 15%. W tych warunkach mikroglony ograniczyły stężenie związków organicznych wyrażone wskaźnikiem ChZT, azot całkowity i fosfor całkowity odpowiednio o 73,90%, 97,10% i 99,80% (Tran i in., 2020).

Gupta i in., (2016) wykorzystali ścieki komunalne jako źródło składników odżywczych dla mikroglonów *Chlorella vulgaris*. Mikroglony były hodowane w warunkach miksotroficznych, wykorzystując glukozę, glicerol i octan jako źródła węgla. W optymalnych warunkach zaobserwowano redukcję stężenia ChZT o 96,90%, a także 65,30% redukcję azotu całkowitego i 71,20% redukcję fosforu. W badaniach nad możliwością oczyszczania ścieków komunalnych pochodzących z kampusów akademickich, (Nie i in., 2018) zastosowali mikroglony *Golenkinia* sp. Badacze uzyskali 99% redukcję azotu amonowego oraz 97,98% usuwania fosforu. Beuckels i in., (2015) wykazali, że wysokie stężenie azotu pozytywnie wpływa na efektywność usuwania fosforu ze ścieków. Mikroglony wykorzystywano również do oczyszczania ścieków bydlęcych, testując mikroglony z gatunku *Scenedesmus obliquus*. Skuteczność usuwania zanieczyszczeń w przypadku ChZT kształtowała się w zakresie 65-70%, amoniaku o 98-99%, fosforu natomiast w przedziale 69-77,5% (de Mendonça i in., 2018).

Zastosowanie mikroglonów znalazło także miejsce w usuwaniu zanieczyszczeń ze ścieków garbarskich. Da Fontoura i in., (2017) zastosowali to medium do hodowli *Scenedesmus* sp., osiągając zmniejszenie stężenia azotu amonowego o 85,63%, fosforu ogólnego o 96,78% oraz ChZT o 80,33%. Mikroglony można również implementować do usuwania farmaceutyków ze ścieków. García-Galán i in., (2020) opisali usuwanie 12 farmaceutyków i ich metabolitów z użyciem mikroglonów, gdzie współczynniki usuwania wahały się w przedziale 40-60%, a w przypadku leków psychotropowych, takich jak karbamazepina i metoprolol, usunięcie wyniosło 13-39%. Dodatkowo, mikroglony, takie jak *Chlamydomonas* sp. Tai-03, wykazują zdolność do usuwania metali ciężkich i produktów farmaceutycznych poprzez fotolizę i hydrolizę (Xie i in., 2019). W badaniach nad adsorpcją metali ciężkich, takich jak kadm, ołów i miedź, mikroglony *S. platensis* i *C. vulgaris* wykazały wysoką skuteczność w

usuwaniu tych zanieczyszczeń. Wszystkie te wyniki świadczą o dużym potencjale mikroglonów w procesach oczyszczania ścieków, zarówno w kontekście usuwania zanieczyszczeń organicznych, jak i metali ciężkich oraz farmaceutyków. Technologie te mogą stanowić innowacyjną alternatywę dla tradycyjnych metod oczyszczania ścieków, oferując przy tym dodatkowe korzyści w postaci produkcji cennych zasobów, takich jak biomasę do dalszego wykorzystania.

2.3.2. Biosekwestracja ditlenku węgla

Biosekwestracja CO₂ polega na wychwytywaniu dwutlenku węgla z atmosfery przez organizmy fotosyntetyczne i jego trwałym magazynowaniu w biomasie (Prasad i in., 2021; Zieliński i in., 2023). Dzięki bardzo wysokiej sprawności wykorzystania energii słonecznej oraz szybkiemu wzrostowi biomasy te mikroorganizmy mogą usuwać ogromne ilości CO₂ - szacuje się, że same mikroglony mogą wiązać ok. 12 000 Mg CO₂/km² rocznie (Chen i Xu, 2020).

W badaniu (Yang i in., 2020) analizowano całkowitą wydajność wychwytywania CO₂ oraz szybkość fotosyntezy w układzie hodowli mikroglonów *Chlorella pyrenoidosa* w zależności od stężenia CO₂. Uzyskane wyniki wykazały, że wydajność wychwytywania ditlenku węgla wynosiła odpowiednio 81,82%, 45,10%, 44,04% i 38,73% dla stężeń CO₂ na wlocie wynoszących 2%, 5%, 10% i 15%. Odwrotną tendencję zaobserwowano w przypadku szybkości fotosyntezy, która rosła wraz ze wzrostem stężenia CO₂. Zarejestrowane szybkości fotosyntezy przy napowietrzaniu odpowiednio 2%, 5%, 10% i 15% CO₂ wynosiły 0,2365, 0,3022, 0,6307 oraz 0,7227 μmol/m³/s.

Inżynieria genetyczna, staje się obiecującym narzędziem do intensyfikacji procesów biosekwestracji CO₂, umożliwiając zwiększenie efektywności fotosyntezy i wydajności wychwytywania węgla przez mikroorganizmy. W badaniu (Song i in., 2021) oceniono wydajność hybrydowego systemu absorpcji i konwersji mikroglonów (CAMC) w wychwytywaniu i wykorzystaniu CO₂. Do eksperymentów wykorzystano szczepy *Chlorella* L166 oraz szczep genetycznie zmodyfikowany uzyskany metodą hodowli w plazmie niskotemperaturowej (LTP), oznaczony jako L166-M3. Zastosowanie technologii LTP, łączącej niekierunkową mutagenezę z kierunkowym przesiewaniem, pozwoliło na uzyskanie szczepu o zwiększonej aktywności fotosyntetycznej i zdolności sekwestracji węgla. Najważniejszym wynikiem badań było wykazanie, że zmodyfikowana *Chlorella* L166-M3 osiągnęła wydajność

wychwytywania CO₂ na poziomie 93,7%, podczas gdy szczep *Chlorella* L166 osiągał 82,9% efektywności (Song i in., 2021).

Mikroglony i sinice są intensywnie badane w kontekście bioregeneracyjnych systemów podtrzymywania życia (BLSS) dla misji kosmicznych. Poprzez fotosyntezę mogą one jednocześnie usuwać CO₂ wydychany przez załogę i dostarczać tlen oraz substancje odżywcze z wygenerowanej biomasy (Keller i in., 2023). Jak podaje literatura (Ewert i Stromgren, 2019) jeden astronauta generuje w ciągu doby 1,08 kg CO₂. Taka ilość ditlenku węgla przetworzonego przez mikroglony pozwoli na uzyskanie 0,79 kg O₂. Dzielne zapotrzebowanie na tlen jednego astronauty to 0,89 kg O₂/dobę (Ewert i Stromgren, 2019).

Przedstawione wartości dzielne zostały oszacowane dla astronauty o masie ciała wynoszącej 82 kg, prowadzącego zbilansowaną dietę oraz realizującego program aktywności fizycznej mający na celu utrzymanie stałej masy ciała oraz zachowanie dobrego stanu zdrowia w trakcie długoterminowej misji kosmicznej. Program ten obejmuje codziennie 30 minut ćwiczeń aerobowych oraz 60 minut ćwiczeń oporowych. W praktyce stosuje się specjalne fotobioreaktory BLSS, w których hodzi się gatunki takie jak *Spirulina* sp. czy *Chlorella* sp. w zamkniętych obiegach gazowych (Keller i in., 2023). Wyniki badań potwierdzają, że dobrze zaprojektowane systemy z mikroglonami mogą dostarczać tlen i usuwać CO₂ z bardzo wysoką wydajnością, co czyni je atrakcyjnym elementem przyszłych instalacji podtrzymywania życia w przestrzeni kosmicznej.

2.3.3. Oczyszczanie gazów odlotowych

Emisje CO₂ z przemysłu i energetyki stanowią główne źródło gazów cieplarnianych, co stwarza potrzebę ich ograniczania (Zieliński i in., 2023). Dzięki wysokiej wydajności fotosyntezy i szybkiemu wzrostowi mikroglony są obiecującym do wychwytywania CO₂ z gazów odlotowych. Gazy odlotowe z elektrowni i zakładów przemysłowych (np. cementowni, hut) zawierają przede wszystkim CO₂, ale także NO_x, SO_x i inne zanieczyszczenia. Typowe stężenia to: ~10-15% CO₂ (elektrownie węglowe: 12-15% obj.; gazowe: 3-4% obj.) Gazy odlotowe z procesów hutniczych mogą zawierać nawet 20-44% CO₂ (przetwórstwo stali) lub 14-33% (produkcja cementu) (Songolzadeh i in., 2014). Inne składniki to tlenek węgla (CO), pyły czy metale ciężkie. Chiu i in., (2011) wykazali, że średnia skuteczność usuwania tlenu azotu (NO) przez *Chlorella* LEB-106 wyniosła 70% przy stężeniu zanieczyszczeń wynoszącym 100 ppm NO oraz 60 ppm ditlenku siarki (SO₂). Ditlenek siarki charakteryzuje się wysoką rozpuszczalnością w wodzie, osiągającą 22,971 g/100 g H₂O w temperaturze 0 °C i

zmniejszającą się do 5,881 g/100 g H₂O w temperaturze 40 °C. Z uwagi na toksyczność SO₂ oraz jego wpływ na przebieg hodowli mikrogolonów, stwierdzono, że należy unikać wprowadzania gazów zawierających SO₂ w stężeniach przekraczających 60 ppm (Chiu i in., 2011).

W badaniach wykazano, że *Chlorella kessleri* osiągała najwyższe tempo wzrostu przy stężeniu 6% CO₂ w FBR, natomiast dalsze zwiększenie stężenia do 12% skutkowało obniżeniem tempa proliferacji komórek. Odmienną tolerancję na podwyższone stężenia CO₂ wykazał *Scenedesmus obliquus*, którego tempo wzrostu nie uległo istotnym zmianom w tych warunkach (de Morais i Costa, 2007). Wysoka rozpuszczalność CO₂ w środowiskach wodnych może jednak prowadzić do obniżenia pH, co z kolei hamuje kluczowe procesy biochemiczne niezbędne do wzrostu mikroorganizmów.

Badania nad *Chlorella* sp. KR-1 wykazały, że populacje te są zdolne do efektywnego wzrostu w obecności szerokiego zakresu stężeń CO₂ w spalinach, od 10 do 70% objętościowych (Sung, 1999). Podobne obserwacje poczynili badacze w artykule (Chiu i in., 2008), którzy wykazali istotną zależność pomiędzy stężeniem CO₂ w spalinach a wydajnością biosekwestracji przy zastosowaniu kultur *Chlorella* sp., gdzie efektywność usuwania CO₂ wynosiła między 16% a 58% w zależności od zastosowanego wariantu eksperymentalnego. W innym badaniu *C. vulgaris* przy zasilaniu spalinami (6% CO₂) osiągała najwyższe tempo przyrostu ~0,79 g/dm³·d (Chunzhuk i in., 2024). Z kolei *A. platensis* rosła w tempie ~0,27 g/dm³·d przy 8% CO₂ (Chernova i in., 2024) zaś z wydajnością 0,21 g/dm³·d przy 3-6% CO₂ (Chunzhuk i in., 2024).

W badaniu (Vorisek i in., 2023) oceniono możliwość wykorzystania gazowego strumienia CO₂/NH₃ jako źródła węgla i azotu do hodowli mikrogolonów *Scenedesmus acutus*, uprawiany w fotobioreaktorach (800 ml) przy stosunkach molowych CO₂/NH₃ od 7 do 18. Najwyższą średnią szybkość wzrostu (0,171±0,015 g/dm³·d) uzyskano przy stosunku CO₂/NH₃ = 10, co przewyższało wzrost osiągany w kontroli z 1% CO₂/N₂ i mocznikiem jako źródłem azotu (0,099±0,028 g/dm³·dzień). Zostało wykazanie, że przy optymalnym stosunku molowym CO₂/NH₃ = 10, efektywność wykorzystania CO₂ wynosiła 57-72%, a NH₃ ponad 90%. Jednak nadmierne szybkości podawania CO₂/NH₃ prowadziły do toksycznej akumulacji amoniaku (>2,0 mM), co wymagało ścisłego kontrolowania podaży gazu, uwzględniającego stężenie jonów amonowych i pH.

2.4. Zastosowanie mikroglonów i sinic w rolnictwie

2.4.1. Biologiczna warstwa glebowa

Biomasa mikroglonów i sinic stanowi cenny zasób, stanowiący obiecującą alternatywę dla tradycyjnych nawozów naturalnych (Noga i Kochman-Kędziora, 2023). Ma to szczególne znaczenie w kontekście wdrażania założeń gospodarki o obiegu zamkniętym, w której odpady są wykorzystywane do wytwarzania produktów o wartości dodanej, co w konsekwencji minimalizuje negatywny wpływ gospodarki na środowisko (Parmar i in., 2023). W naturze mikroglony i sinice w połączeniu z grzybami i bakteriami tworzą tzw. biologiczną warstwę glebową (BSC). To powiązane wieloma zależnościami i ulegające dynamicznym przemianom konsorcjum mikroorganizmów pełni kluczową rolę w poprawie żyzności gleby, poprzez wspomaganie wzrostu roślin uprawnych oraz zwiększając bioróżnorodność gleb (Abinandan i in., 2019).

Przeprowadzone badania wykazały, że mikroglony i cyjanobakterie obecne są w formacjach BSC w różnych typach gleb, w tym w glebach gliniastych (Kolman i in., 2024) oraz piaszczystych (Lichner i in., 2013). Środowiska te charakteryzują się niską zawartością materii organicznej, ograniczoną dostępnością węgla i azotu. Dodatkowo, gleby te są narażone na przyczyniający się do ich degradacji stres abiotyczny związany z podwyższonymi temperaturami, ograniczoną dostępnością wody, intensywnym promieniowaniem ultrafioletowe (UV) oraz zwiększonym stężeniem CO₂ w środowisku (Kolman i in., 2024). Stwierdzono, iż w takich ekosystemach glebowych mikroglony i sinice mogą odgrywać kluczową rolę w procesie formowania się BSC. Ich przetrwanie w tych niekorzystnych warunkach środowiskowych jest wspierane przez różnorodne mechanizmy adaptacyjne, w tym rozwój heterocyst (umożliwiających asymilację azotu) oraz produkcję pozakomórkowych polisacharydów (EPS - Extracellular Polymeric Substances), które mają właściwości stabilizujące oraz pomagają w utrzymaniu integralności komórkowej (Colica i in., 2014). Te adaptacje zdolności zwiększają odporność mikroorganizmów na suszę, a także chronią kwasy nukleinowe przed uszkodzeniami wywołanymi przez promieniowanie UV-B.

Wyniki badań wskazują na obecność licznych grup taksonomicznych sinic w glebach, w tym Oscillatoriales, Nostocales, Chroococcales, Synechococcales, Chroococcidiopsidales, Pleurocapsales, Microcoleaceae oraz Chlorellales (Trivedi i in., 2016). Udowodniono, iż mogą one odgrywać kluczową rolę w formowaniu BSC i regeneracji gleby (Trivedi i in., 2016). Eksperymentalne szczepienie gleby biomasą mikroglonów i sinic wpływało na zwiększenie stężenia składników odżywczych w glebie, w tym węgla, azotu, fosforu oraz innych

mikroelementów. Poprawie uległa struktura gleby, uzyskano wzrost retencji wody oraz ułatwienie infiltracji, co ma kluczowe znaczenie w kontekście poprawy jakości gleby i efektywności jej użytkowania w rolnictwie (Lichner i in., 2013). Takie efekty są szczególnie istotne w obliczu zmian klimatycznych oraz wyzwań związanych z degradacją gleb w wielu regionach świata, gdzie intensywne użytkowanie gruntów oraz zmniejszona dostępność wody powodują problemy związane z utrzymaniem ich żyzności (Lichner i in., 2013).

2.4.2. Biostymulacja

Mikroglony mogą być wykorzystywane do poprawy wzrostu roślin jako biostymulatory, biopestycydy (biokontrolery) bądź bionawozy (Ferreira i in., 2023). Ekstrakty oraz metabolity pozyskiwane z różnych grup taksonomicznych mikroglonów, w tym *Chlorella* spp., *Spirulina platensis*, *Acutodesmus* spp., *Scenedesmus* spp., *Dunaliella* spp., *Calothrix elenkini* znajdują szerokie zastosowanie jako biostymulatory w procesach wspomagających wzrost i rozwój roślin. Środki te aktywują naturalne mechanizmy fizjologiczne w roślinach, zwiększając pobieranie i efektywność wykorzystania składników odżywczych, zwiększając tolerancję na stres abiotyczny i wpływając na jakościowe cechy produktów rolnych (Kapoore i in., 2021). Dostarczają one bioaktywnych substancji, takich jak aminokwasy, witaminy, hormony wzrostu (np. auksyny (AU), gibereliny (GA), cytokininy) oraz poliaminy, które stymulują podziały komórkowe, rozwój systemu korzeniowego oraz zwiększają biomasę roślinną, co przekłada się na poprawę wzrostu i plonowania (Hudeček i in., 2023; Kieber i Schaller, 2014).

Substancje zawierające cyjanobakterie z rodzajów (*Nostoc* sp., *Anabaena* sp., *Aulosira* sp., *Tolypothrix* sp., *Nodularia* sp., *Cylindrospermum* sp., *Scytonema* sp., *Aphanothece* sp., *Calothrix* sp., *Anabaenopsis* sp.) wytwarzają związki sprzyjające wzrostowi roślin (Chatterjee i in., 2017, Benjamins i Scheres, 2008). Auksyna reguluje ich procesy rozwojowe. W różnych gatunkach cyjanobakterii wykryto auksyny, w tym kwas indolo-3-octowy (IAA), kwas indolo-3-masłowy (IBA), kwas indolo-3-propionowy (IPA) i 3-metyloindol (Hashtroudi i in., 2013). Według (Lee i Ryu, 2021) auksyna glonowa wydaje się pozytywnie regulować interakcje między roślinami a mikroglonami. To oznacza, że substancja ta może działać jako cząsteczka sygnalizacyjna, pośrednicząca w interakcjach na poziomie roślina-mikroglony (Lee i Ryu, 2021). Wykazano, że traktowanie roślin płynnymi ekstraktami z eukariotycznych mikroglonów *Tetraselmis* sp., *D. salina*, *N. gaditana*, *Aphanothece* sp., oraz *A. maxima* wywołuje akumulację prekursora kwasu jasmonowego w pomidorach. Postuluje się, iż odporność roślin, która jest wywołana obecnością mikroglonów, jest ściśle zaangażowana w aktywację sygnalizacji

hormonalnej związanej z ich mechanizmami obronnymi (Lee i Ryu, 2021). Auksyny są w dużym stopniu odpowiedzialne za regulację elongacji komórek, czyli wzrostu wydłużeniowego, który prowadzi do powiększania m. in. korzeni i pędów, oraz wpływa na kierunek ich wzrostu (Eyidogan i in., 2012). Proces elongacji jest wynikiem pobierania wody przez komórki, co powoduje wzrost ciśnienia hydrostatycznego (Jin i in., 2013). Jednocześnie, pod wpływem auksyn, ściana komórkowa staje się bardziej rozciągliwa, co umożliwia zwiększenie objętości komórek i ich wydłużenie, a w konsekwencji przyczynia się do wzrostu całej rośliny (Eyidogan i in., 2012). Mikroglony takie jak *Chlorella* spp., *Coenochloris* spp., *Acutodesmus* spp. i *Scenedesmus* spp., *Chlorococcum* spp. zawierają auksyny w stężeniu od 0,18 do 99,83 nmol/g suchej biomasy składającej się z dwóch głównych związków, tj. kwasu indolo-3-octowego (IAA) i indolo-3-acetamidowego (IAM) (Kapoore i in., 2021).

Gibereliny stymulują wzrost poprzez rozciąganie tkanek roślinnych i przyspieszają wzrost pędów, szczególnie w fazie kiełkowania, co jest istotne dla końcowej długości łodyg. Kwasy giberelinowe aktywują procesy enzymatyczne, które umożliwiają kiełkowanie nasion poprzez rozkład substancji zapasowych w nasionach (Ritonga i in., 2023). Inna funkcja gibereliny obejmuje zwiększenie tolerancji roślin na stres abiotyczny. Związki te wspierają rośliny w adaptacji do trudnych warunków środowiskowych takich jak susza, silne zasolenie i wysokie temperatury (Nagar i in., 2021). Działając na szlaki metaboliczne związane z osmoregulacją, aktywnością enzymów antyoksydacyjnych czy utrzymaniem równowagi jonowej, gibereliny poprawiają zdolność roślin do radzenia sobie w trudnych warunkach środowiskowych (Ritonga i in., 2023). W przebadanych przez zespół naukowców różnych gatunkach mikroglonów zidentyfikowano około 19 typów kwasów giberelinowych, których główne funkcje obejmują wydłużanie łodygi, inicjację kiełkowania nasion poprzez aktywację enzymu (alfa-amylaza), inicjację kwitnienia oraz rozwój kwiatów (Kapoore i in., 2021). Zaobserwowano, że ekstrakty zawierające gibereliny pochodzące z mikroglonów *C. vulgaris* zmniejszały niekorzystne skutki spowodowane stresem jakim była obecność metali ciężkich i zapewniały obronę przed ołowiem i kadmem (Han i in., 2018). Według danych literaturowych całkowite stężenie kwasów giberelinowych w mikroglonach waha się w zakresie od 3 pg/mg biomasy dla GA7 w *Gyoefferfiana humicola* do 3452,9 pg/mg dla GA15 w *Scotiellopsis terrestris* (Stirk i in., 2013).

Z kolei cytokininy kontrolują podziały komórkowe, wspomagając rozwój pąków bocznych i korzeni, wspomagają pobieranie składników odżywczych, wpływają na ulistnienie oraz rozwój naczyniowy, gametofitowy i embrionalny (Kieber i Schaller, 2014). Cytokininy biorą udział w regulacji metabolizmu chlorofilu, tym samym odgrywając ważną rolę w

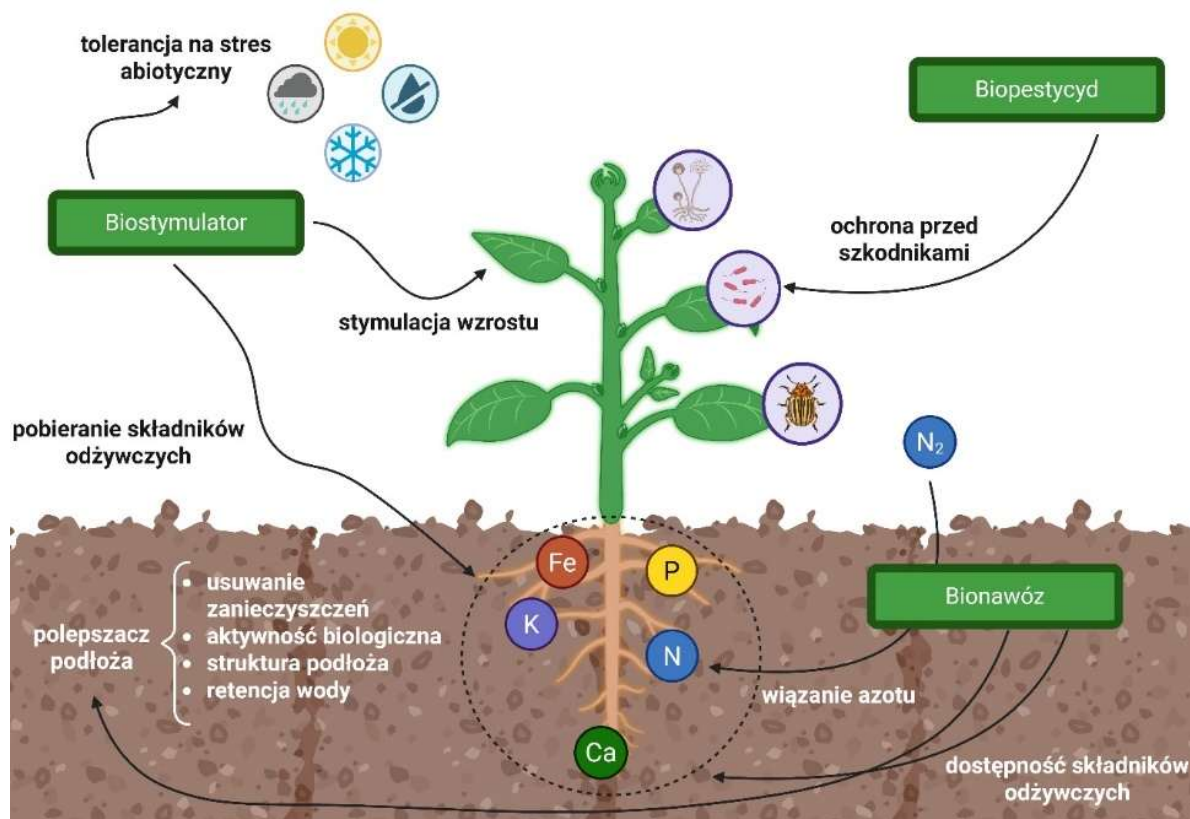
opóźnianiu starzenia się liści, zwiększając zdolność do przeprowadzania procesu fotosyntezy. To opóźnienie starzenia się ma kluczowe znaczenie dla utrzymania produktywności roślin i jest kluczowym czynnikiem plonu (Hudeček i in., 2023). Cytokiny uodparniają także rośliny na czynniki biotyczne i abiotyczne. Wykorzystanie ekstraktów mikroglonów z gatunku *Nannochloropsis* spp. zawierających cytokinę, łagodziło stres wodny i azotowy podczas uprawy pomidora (Oancea i in., 2017). Zespół naukowców poddał analizie 24 szczepy mikroglonów (Stirk, Ördög, i in., 2013). Badacze zidentyfikowali dziewiętnaście różnych rodzajów cytokin. Całkowite stężenia tych związków były zróżnicowane i wahały się od 0,29 nmol/g s.m. w przypadku mikroglonów z gatunku *Klebsormidium flaccidum* MACC-692 do 21,40 nmol/g s.m. w odniesieniu do mikroglonów *Stigeoclonium nanum* MACC-790. Ogólny trend wskazywał na dominację cytokin typu cis-zeatyna. Cytokiny z grupy izopentenyladeniny występowały w umiarkowanych stężeniach, natomiast poziomy cytokin typu trans-zeatyna były niskie, a typu dihydrozeatyna - bardzo niskie (Stirk, Ördög, i in., 2013).

Poliaminy, takie jak putrescyna (PUT), spermina (SPM) i spermidyna (SPS), są organicznymi związkami chemicznymi, które wpływają na procesy fizjologiczne, takie jak podziały komórkowe, różnicowanie tkanek oraz odpowiedź na stres abiotyczny i (Lin i Lin, 2018). Wykazano, że zawartość poliamin w mikroglonach mieści się w zakresie typowym dla roślin wyższych (50-150 µg/g świeżej masy) (Sacramento i in., 2004). Szlaki biosyntezy poliamin w mikroglonach wykazują znaczące podobieństwo do tych obserwowanych w roślinach wyższych. Zgodnie z publikowanymi danymi *Spirulina platensis* wykazuje wysoką zawartość poliamin (Tarakhovskaya i in., 2007). W gramie suchej biomasy tego gatunku stwierdzono obecność 0,76 µg (PUT), 3,31 µg (SPM) oraz 0,67 µg (SPS). Dane uzyskane podczas prac eksperymentalnych przedstawiają, że związki poliamin pochodzących z sinic z gatunku *A. platensis* wzmacniają wzrost siewek buraka ćwikłowego, wykazując zachowanie biostymulujące (Mógor i in., 2018). W innym eksperymencie, dotyczącym zbadania wpływu wykonania oprysku dolistnego mikroglonami z gatunku *A. platensis* i *Scenedesmus* sp. na rozwój rośliny kontrolnej *Petunia x hybrida* również uzyskano obiecujące wyniki (Plaza i in., 2018). Stężenie mikroglonów w wykorzystanym roztworze wynosiło 10 g/dm³ a oprysk wykonano 5 razy podczas trwania eksperymentu. Uzyskane dane pokazują, że dolistne stosowanie mikroglonów *Scenedesmus* sp. przyspieszyło rozwój roślin pod względem większego tempa wzrostu korzeni, rozwoju liści i pędów oraz wczesnego kwitnienia (Plaza i in., 2018). Sinice zwiększyły suchą masę korzeni, liczbę kwiatów na roślinę i zawartość wody. Niemniej jednak stwierdzono zmniejszenie suchej masy tkanki przewodzącej w przypadku *A. platensis* w porównaniu ze *Scenedesmus* sp. i grupą kontrolną. Wyniki pokazują również, że

dostarczanie mikroglonów w postaci hydrolizowanej może wpłynąć korzystnie na rozwój roślin (Plaza i in., 2018). Biorąc pod uwagę opisane wyniki dotychczasowych prac badawczych biostymulatory z mikroglonów kompleksowo wspierają rośliny w adaptacji do niekorzystnych warunków środowiskowych, zwiększając ich zdrowotność, odporność i efektywność metaboliczną, co w konsekwencji prowadzi do wyższych plonów i lepszej jakości produkcji roślinnej (Povero i in., 2016). Sposoby zastosowania mikroglonów i sinic w poprawieniu wydajności uprawy roślin zaprezentowano na rysunku 1.

2.4.3. Biologiczna ochrona roślin

Mikroglony syntetyzują zróżnicowane metabolity wtórne, które wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową oraz mogą efektywnie przeciwdziałać patogenom roślinnym i szkodnikom (Parmar i in., 2023). Substancje te noszą nazwę biopestycydów, czyli naturalnych związków, które są stosowane do zwalczania szkodników, chorób i chwastów w rolnictwie (Parmar i in., 2023). Związki takie jak flawonoidy, terpenoidy oraz związki fenolowe i karotenoidy charakteryzują się właściwościami antybakteryjnymi i antygrzybicznymi, wspierając ochrony roślin przed infekcjami oraz ograniczając aktywność szkodników (Lee i Ryu, 2021).



Rysunek 1 Techniki zastosowania mikroglonów i sinic w procesach poprawienia wydajności uprawy roślin. Stworzone za pomocą BioRender.com

Dzięki zdolności do hamowania wzrostu patogennych bakterii i grzybów, mogą znacząco redukować zapotrzebowanie na chemiczne środki ochrony roślin, wspierając tym samym zrównoważone praktyki rolnicze (Rachidi i in., 2021). Dodatkowo, ekstrakty z mikroglonów mogą stymulować naturalne mechanizmy obronne roślin, zwiększając ich odporność na choroby (Rachidi i in., 2021).

Wśród tych przeciwutleniaczy, kluczową rolę pełnią karotenoidy, które są centralnym elementem m. in. procesów fotosyntezy. Karotenoidy odgrywają istotną rolę w pigmentacji nasion, owoców i kwiatów, a także stanowią prekursorzy fitohormonów sygnałowych, takich jak kwas abscysynowy (ABA) i strigolaktyny (Sun i in., 2022). W mikroglonach szczególnie wyróżniającymi się karotenoidami są alfa- i beta-karoten w *Dunaliella salina*, *C. vulgaris* oraz fukoksantyna w *Phaeodactylum tricornutum* i *Isochrysis galbana*. Profil karotenoidów w mikroglonach i cyjanobakteriach został szczegółowo opisany w licznych badaniach (Cezare-Gomes i in., 2019; Sharangi, 2016). Udowodniono, iż półciągła hodowla mikroglonów z gatunku *Dunaliella salina* w temperaturze 25°C wytworzyła 80 g/m³·d biomasy z której odzyskano 1,25 mg/dm³ β-karotenu, przy czym wartość tę można podwoić do stężenia wynoszącego 2,45 mg/m³·d w ciągłych bioreaktorach dwufazowych (Hejazi i in., 2004).

Na uwagę zasługują także związki fenolowe, które odgrywają istotną rolę w reakcjach obronnych na stres środowiskowy, infekcje czy uszkodzenia mechaniczne (Mandal i in., 2010). Niektóre gatunki mikroglonów, takie jak *Chlorella sorokiniana* (UKM2), *Chlorella* sp. (UKM8) czy *Scenedesmus* sp. (UKM9), charakteryzują się zdolnością do wytwarzania związków o działaniu antybakteryjnym i antygrzybicznym, takich jak fenol, kwas heksadekenowy czy fitol, co zostało potwierdzone przez (Shaima i in., 2022). Substancje te mogą odgrywać kluczową rolę w ochronie roślin przed infekcjami bakteryjnymi i grzybiczymi, wspierając ich zdrowotność w naturalnych i kontrolowanych środowiskach uprawowych (Rachidi i in., 2021).

Działanie antybakteryjne mikroglonów jest potencjalnym szczególnie istotne w odniesieniu do interakcji z bakteriami zasiedlającymi rośliny, takimi jak *Pantoea agglomerans*. Bakterie te występują powszechnie na powierzchni roślin i należą do najczęściej opisywanych bakteryjnych patogenów kukurydzy (Morales-Valenzuela i in., 2007). Wykazują zarówno charakter epifityczny, jak i endofityczny, a w określonych warunkach mogą pełnić rolę oportunistycznych patogenów człowieka (Rezzonico i in., 2009; Sobiczewski i Iakimova, 2022). Mogą stanowić potencjalny cel dla bioaktywnych związków syntetyzowanych przez mikroglony. Interakcja tego typu może prowadzić do ograniczenia

niepożądanych efektów wywoływanych przez bakterie, jednocześnie wspierając zdrowy rozwój roślin. Połączenie ochronnych właściwości mikrogolonów z ich zdolnością do kontrolowania liczebności mikroorganizmów, takich jak *Pantoea agglomerans*, stwarza nowe perspektywy w zakresie biokontroli oraz zrównoważonego rolnictwa.

2.4.4. Bionawożenie

Pod pojęciem bionawozu rozumie się substancję lub zestaw mikroorganizmów wprowadzonych do gleby w ramach dostarczenia pierwiastków biogenych i pobudzenia wzrostu roślin dzięki naturalnym procesom wiązania azotu czy solubilizacji fosforu i stymulujących rozwój roślin na drodze syntezy substancji wspomagających wzrost (Chatterjee i in., 2017). Termin bionawóz interpretuje się jako szczepionka bakteryjna, pochodna glonów lub grzybów, stosowana dla roślin w ramach poprawy dostępności składników odżywczych wykorzystywanych przez rośliny, niezależnie od ilości składników odżywczych w samej szczepionce (Gałązka i Podleśny, 2024). W innym ujęciu jest to produkt biodegradowalny zawierający żywe mikroorganizmy rozpuszczające fosforany i wiążące azot (PGPR Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria) (Chatzistathis i in., 2024). Zasadniczo główną różnicą między pojęciem bionawóz a biostymulator, jest to iż biostymulatory nie dostarczają składników odżywczych bezpośrednio roślinom, w przeciwieństwie do bionawozów (Ferreira i in., 2023).

Bionawóz z mikrogolonów jest potencjalnym doskonałym źródłem azotu glebowego (Slinksienė i in., 2022). Niedobór tego pierwiastka biogenego negatywnie wpływa na produktywność roślin. Przede wszystkim hamuje ich wzrost i spowalnia rozwój. Powoduje także żółknięcie liści, zmniejsza odporność na porażenie grzybami patogennymi, a co za tym idzie, obniża plony. Ponadto znaczna ilość zastosowanego azotu jest tracona w wyniku ulatniania się, wymywania z gleby, denitryfikacji i erozji gleby (Chapman, 2013). W badaniu przeprowadzonym przez (Izzati i in., 2019) dotyczącym nawożenia gleb piaszczystych i gliniastych poprzez dodatek makrogolonów odnotowano poprawę właściwości chemicznych gleby. Po dodaniu *Sargassum* i *Gracilaria* wzrosła zawartość materii organicznej, obniżyło się pH (w porównaniu z pierwotnego pH wzbogaconej gleby) oraz zmniejszył się stosunek węgla do azotu (C/N). Mikroorganizmy te mogą wspomagać procesy związane z asymilacją azotu, fosforu czy potasu, zwiększając zdolność roślin do pobierania składników odżywczych z gleby (Ronga i in., 2019).

Sinice, jako diazotrofy, posiadają zdolność wiązania azotu atmosferycznego (N_2) dzięki enzymowi nitrogenazie, który w warunkach beztlenowych redukuje N_2 do amoniaku (NH_3) (Do Nascimento i in., 2019). W przypadku sinic nitkowatych, takich jak *Anabaena*, proces ten zachodzi w wyspecjalizowanych komórkach zwanych heterocytami, które zapewniają środowisko beztlenowe niezbędne do działania nitrogenazy (Singh i in., 2002). Powstały amoniak jest następnie przekształcany w związki azotowe przyswajalne przez rośliny, takie jak glutamina, i transportowany do sąsiednich komórek fotosyntetyzujących (Kraiser i in., 2011). Po aplikacji świeżej biomasy cyjanobakterii do gleby, wzbogacenie podłoża w azot może zachodzić na dwa sposoby. Bezpośrednio, jeśli sinice nadal są aktywne biologicznie i mogą wiązać azot w sprzyjających warunkach środowiskowych (np. odpowiednia wilgotność) (Yandigeri i in., 2011). Pośrednio poprzez rozkład biomasy, która uwalnia wcześniej związane związki azotowe, takie jak amoniak, aminokwasy lub inne formy organiczne azotu, mogą być przyswajane przez rośliny (Jhala i in., 2017).

Najpowszechniejszym typem mechanizmu jest proces oparty na heterocystach. Symbiotyczna relacja z rośliną pozwalana na kolonizację przez sinice liści i korzeni rośliny żywicielskie (Singh i in., 2002). Mikroglony, takie jak *Anabaena* spp. i *Tolypothrix* spp., zostały zaobserwowane jako gatunki kolonizujące korzenie pszenicy i bawełny. Z kolei cyjanobakterie z gatunku *Nostoc* spp. wykazały swoją obecność na ryżu (Babu i in., 2015). W innym badaniu stwierdzono, że endofityczny szczep *Nostoc* wyizolowany z korzeni ryżu wytwarza i uwalnia fitohormony w optymalnych warunkach (25°C, pH 8,0). Badanie wyraźnie wykazało, że cytokinina zawarta w *Nostoc* sprzyja kolonizacji korzeni roślin i promuje ich wzrost (Hussain i in., 2013). Mikroglony jako źródło azotu (N_2) mogą być wprowadzane do gleby w różnych formach: sinice w postaci żywej kultury, natomiast zielone mikroglony jako suszona biomasa lub zawiesina (Alvarez i in., 2021). Stosowanie mikroglonów jako źródła azotu pozwala zredukować jego wypłukiwanie, ponieważ mniej niż 5% azotu zawartego w biomacie mikroglonów występuje w postaci zmineralizowanej (Mulbry i in., 2005). W przypadku aplikacji mocznika ma miejsce ułatnianie się amoniaku (NH_3). Wykorzystanie suszonej biomasy mikroglonów eliminuje ten problem (Castro i in., 2017).

Biomasa mikroglonów może również stanowić źródło łatwo dostępnego fosforu (Solovchenko i in., 2021). Ten pierwiastek biogeny jest szeroko stosowany w rolnictwie (Bechtaoui i in., 2021). Jest drugim, po azocie, makroelementem najbardziej ograniczającym wzrost roślin. Dostępność fosforu jest jednak ściśle ograniczona faktem, że jest on zasobem nieodnawialnym. Produkcja preparatów nawozowych zawierających fosfor odbywa się z mineralnych źródeł fosforu, na przykład z fosforytów (Samreen i Kausar, 2019). Fosfor zawarty

w nawozach jest w postaci trudno dostępnej dla roślin, przez co rośliny nie mają czasu na jego pozyskanie. W związku z tym fosfor jest wypłukiwany i trafia do zbiorników wodnych, co jest główną przyczyną eutrofizacji akwenów wodnych (Bechtaoui i in., 2021). Bionawóz na bazie mikroglonów wyróżnia się mechanizmem działania, który odróżnia go od tradycyjnych nawozów chemicznych i organicznych. Zawarty w nich fosfor jest uwalniany z komórek mikroglonów w tempie podobnym do tempa pobierania fosforu przez rośliny (Ray i in., 2013). Daje to szansę na bardziej efektywne wykorzystanie składników nawozów przez rośliny uprawne i zapobiega nadmiernemu wymywaniu fosforu, co powoduje zanieczyszczenie środowiska.

Mechanizmy dotyczące fosforu dotyczą jego rozpuszczania przez mikroglony. Zarówno mikroglony, jak i sinice są uważane za mikroorganizmy rozpuszczające fosforany (Phosphate Solubilizing Microorganisms-PSM) (Yandigeri i in., 2011). Zwiększają dostępność fosforu w glebie poprzez rozpuszczanie nierozpuszczalnych fosforanów, poprawiając w ten sposób odżywianie roślin. Należy zwrócić uwagę na fakt, iż fosfor wiąże się z glinem bądź wapniem w zależności od pH. W środowisku kwaśnym (pH poniżej 5,5) zwiększa się mobilność glinu, który może tworzyć z fosforem nierozpuszczalne sole, ograniczając dostępność fosforu dla roślin (Wieger in. 2019). W takich warunkach rośliny mogą mieć trudności z pobieraniem fosforu, prowadząc do zahamowania wzrostu i obniżenia plonów. Sinice uwalniając chelatory wiążą jony (Ca^{2+}), co może prowadzić do obniżenia stężenia dostępnego wapnia w glebie (Wieger i in., 2019). Drugim sposobem jest uwalnianie kwasów organicznych promujących rozpuszczanie fosforu (Alvarez i in., 2021). Dokonano oceny wykorzystania potencjału dwóch diazotroficznych sinic w ramach poznania mechanizmu rozpuszczania fosforu mineralnego. Badania eksperymentalnego wykazały, iż gatunki sinic, takie jak *Anabaena variabilis* i *Westelliopsis* spp., wydzielają kwas fitalowy, który umożliwia rozpuszczanie fosforu z fosfatu wapnia oraz skały fosforanowej (Yandigeri i in., 2011).

Sinice i mikroglony charakteryzują się także zdolnością do gromadzenia fosforu wewnątrz komórek w postaci granulek polifosforanowych. W sytuacji stresu fosforanowego, gdy poziom fosforu zostanie wyczerpany z otaczającego środowiska, ta rezerwa jest wykorzystywana przez mikroglony. U gatunków takich jak *Nanochloropsis oceanica*, *Nannochloropsis gaditana*, *Tetraselmis suecia* badacze zaobserwowali możliwość relokacji fosforu podczas niedoboru tego pierwiastka w medium (Cañavate i in., 2017) pozwalając mikroglonom na pochłonięcie większej ilości fosforu. Zjawiska te mogą zostać wykorzystane do dostarczania rozpuszczonego fosforu roślinom. W tabeli 1 przedstawiono zestawienie

wykorzystania biomasy z różnych gatunków mikroglonów i cyjanobakterii do stymulowania wzrostu roślin i poprawiania jakości gleby.

Tabela 1 Wpływ wykorzystania mikroglonów i sinic do poprawiania wydajności upraw.

Gatunek	Rodzaj	Roślina wskaźnikowa	Wpływ	Referencje
<i>Chlorella</i> sp.	mikroglony	sałata	zwiększenie świeżej i suchej masy roślin oraz ilości pigmentów w sadzonkach	(Tesfa i in., 2018)
<i>Chlorella vulgaris</i>	mikroglony	jarmuż	zwiększenie całkowitej zawartości chlorofilu, karotenoidów i flawonoidów	(Park i in., 2022)
<i>Chlorella sorokiniana</i>	mikroglony	pszenica	zwiększenie długości rośliny oraz suchej masy części podziemnej oraz nadziemnej	(Kholssi i in., 2019)
<i>S. obliquus</i> i <i>C. vulgaris</i>	mikroglony	sałata	zmniejszenie zasolenia gleby, dwukrotnie większy plon	(Alvarenga i in., 2023)
<i>Microcystis aeruginosa</i>	sinice	kukurydza	zwiększenie zdolności kiełkowania i wzrostu siewek	(Grzesik i Romanowska-Duda, 2014)
<i>Anabaena</i> sp.	sinice			
<i>Chlorella</i> sp.	mikroglony			
<i>Anabaena</i> spp.	sinice	sałata	zwiększona liczba, powierzchnia i długość liści, zwiększenie świeżej i suchej masy części nadziemnej oraz suchej masy korzeni	(Menamo i Wolde, 2013)
(I) <i>Pseudanabaena</i> sp.+ <i>Chlorogloea</i> sp., (II) <i>Pseudanabaena</i> sp.+ <i>Nostoc</i> sp., (III) <i>Chlorogloea</i> sp.+ <i>Nostoc</i> sp.	sinice	ryż	zwiększenie plonu ryżu	(Purwani i in., 2021)
<i>Anabaena</i> spp.	sinice	pomidor	zwiększona zawartość N, P, Zn i Fe w pędach roślin, przyspieszone tempo wiązania azotu w glebie	(Abuye i Achamo, 2016)

2.5. Badania nad mikroorganizmami w przestrzeni kosmicznej

Wybór mikroglonów jako bionawozu wynika z ich kluczowej roli w scenariuszach przyszłych baz kosmicznych, gdzie są traktowane jako integralny element biologicznych systemów podtrzymywania życia (BLSS). Systemy znane są również jako kontrolowane ekologiczne systemy podtrzymywania życia (CELSS) (Guo i in., 2017). Scenariusze tego rodzaju opracowywane są, aby wspierać długoterminowy pobyt ludzi poza Ziemią. Systemy wykorzystują proces utylizacji zużytego powietrza i ścieków przez mikroorganizmy (Lasseur i in., 2010). Ich celem jest zmniejszenie zależności od zasobów Ziemi poprzez utrzymanie samowystarczalnego cyklu tlenu, wody i pożywienia dla astronautów przebywających w

kosmosie, a jednocześnie ochrona przed zanieczyszczeniem ciał niebieskich poprzez efektywny recykling materiałów odpadowych (Lasseur i in., 2010). Obecnie na świecie prowadzone są intensywne badania nad szerokim spektrum zastosowań mikroglonów w przestrzeni kosmicznej, jednak nadal poszukiwane są alternatywne sposoby wykorzystania ich potencjału poza Ziemią. W literaturze naukowej znajduje się wiele doniesień dotyczących możliwości produkcji biomasy mikroglonów w warunkach pozaziemskich (Revellame i in., 2021). Eksperymenty można podzielić na prowadzone wewnątrz Międzynarodowej Stacji Kosmicznej (ISS) oraz realizowane w przestrzeni kosmicznej poza jej strukturami (De Vera i in., 2019).

7 lutego 2008 roku na pokładzie Międzynarodowej Stacji Kosmicznej (ISS) zainstalowano urządzenie EXPOSE-E. Aparatura zawierała próbki biologiczne i chemiczne w tym bakterie, grzyby oraz nasiona roślin (Rabbow i in., 2012). Głównym celem eksperymentu było zbadanie wpływu ekstremalnych warunków panujących w przestrzeni kosmicznej, takich jak promieniowanie kosmiczne, mikrogravitacja oraz znaczne wahania temperatur, na stabilność i zachowanie tych materiałów w środowisku niskiej orbity okołoziemskiej (LEO) (Rabbow i in., 2012). Mikrogravitacja (nieważkość) to stan, w którym siły grawitacyjne działające na obiekty są znacznie osłabione, a przyspieszenie grawitacyjne osiąga wartości bliskie zeru. Nie oznacza to całkowitego wyeliminowania grawitacji, lecz jedynie jej znaczne ograniczenie. Warunki mikrogravitacyjne występują m.in. na pokładzie ISS, gdzie obiekty, w tym astronauty, doświadczają nieważkości na skutek swobodnego spadku orbitalnego stacji wokół Ziemi. Moduł EXPOSE-E został zamontowany na zewnątrz ISS, co umożliwiło bezpośrednią ekspozycję próbek na warunki kosmiczne takich jak próżnia kosmiczna, elektromagnetyczne promieniowanie słoneczne o długości fali powyżej 110 nm oraz promieniowanie kosmiczne (taca 1), a także warunki marsjańskie, obejmujące odpowiednie ciśnienie i skład atmosfery, z ekspozycją na promieniowanie UV lub bez (taca 2). Eksperyment trwał 18 miesięcy, podczas których próbki były poddawane ciągłej obserwacji i analizie. 12 września 2009 roku, po zakończeniu misji, urządzenie EXPOSE-E zostało sprowadzone na Ziemię w ramach przeprowadzenia szczegółowych analiz laboratoryjnych. Badania miały na celu ocenę stopnia degradacji lub przystosowania próbek do ekstremalnych warunków kosmicznych, co dostarczyło istotnych danych dla astrobiologii, nauk materiałowych oraz planowania przyszłych misji kosmicznych, w tym załogowych misji na Marsa (Rabbow i in., 2012). Wyniki eksperymentu przyczyniły się do lepszego zrozumienia wpływu środowiska kosmicznego na organizmy żywe i materiały, co jest kluczowe dla rozwoju technologii kosmicznych oraz ochrony biologicznej w odniesieniu do eksploracji przestrzeni kosmicznej.

Jednym z eksperymentów, przeprowadzonych w ramach projektu EXPOSE-E, był projekt LiFE, którego głównym celem było zbadanie wpływu długotrwałej ekspozycji na warunki kosmiczne na organizmy lityczne, zamieszkujące siedliska skaliste. W trakcie analizy mającej na celu ocenę przeżywalności mikroorganizmów w ekstremalnych warunkach kosmicznych, udało się wyizolować między innymi szczep mikroglonów (zielenic) *Stichococcus* sp. za pomocą testu PMA (Propidium Monoazide Assay) (Cottin i in., 2017).

Eksperymenty prowadzone wewnątrz Międzynarodowej Stacji Kosmicznej mają charakter zbliżony do tradycyjnej produkcji mikroglonów na Ziemi, lecz z uwzględnieniem specyficznych warunków panujących w przestrzeni kosmicznej, takich jak mikrogravitacja (De Vera i in., 2019). W 2019 roku na pokładzie ISS zrealizowano eksperyment o nazwie PBR@LSR (PhotoBioReactor@LifeSupportRack), którego celem było przetestowanie efektywności długoterminowej hodowli mikroglonów w warunkach kosmicznych. Reaktor ten zawierał szczep mikroglonów z gatunku *C. vulgaris*, jednego z najbardziej rozpowszechnionych i wszechstronnych organizmów w biotechnologii, szeroko wykorzystywanego w produkcji biomasy, białek oraz w procesach oczyszczania środowiska (Detrell i in., 2020). Urządzenie do hodowli mikroglonów w ramach eksperymentu PBR@LSR opierało się na technologii μ gPBR (microgravity PhotoBioReactor), zaprojektowanej specjalnie do warunków mikrogravitacji (Detrell i in., 2020). Technologie te, w szczególności innowacyjny rdzeń reaktora, intensyfikują namnażanie biomasy mikroglonów przez ich namnażanie w formie biofilmu na płytkach wyposażonych w przepuszczającą gaz membranę. Taki system zapewnia odpowiednią wymianę gazową oraz optymalne warunki do fotosyntezującego wzrostu mikroorganizmów (Detrell i in., 2020). Zastosowanie tej technologii pozwala na efektywną hodowlę mikroglonów, co jest kluczowe w odniesieniu do długotrwałych misji kosmicznych, w których mikrogravitacja reprezentuje istotne wyzwanie dla tradycyjnych metod uprawy (Helisch i in., 2020).

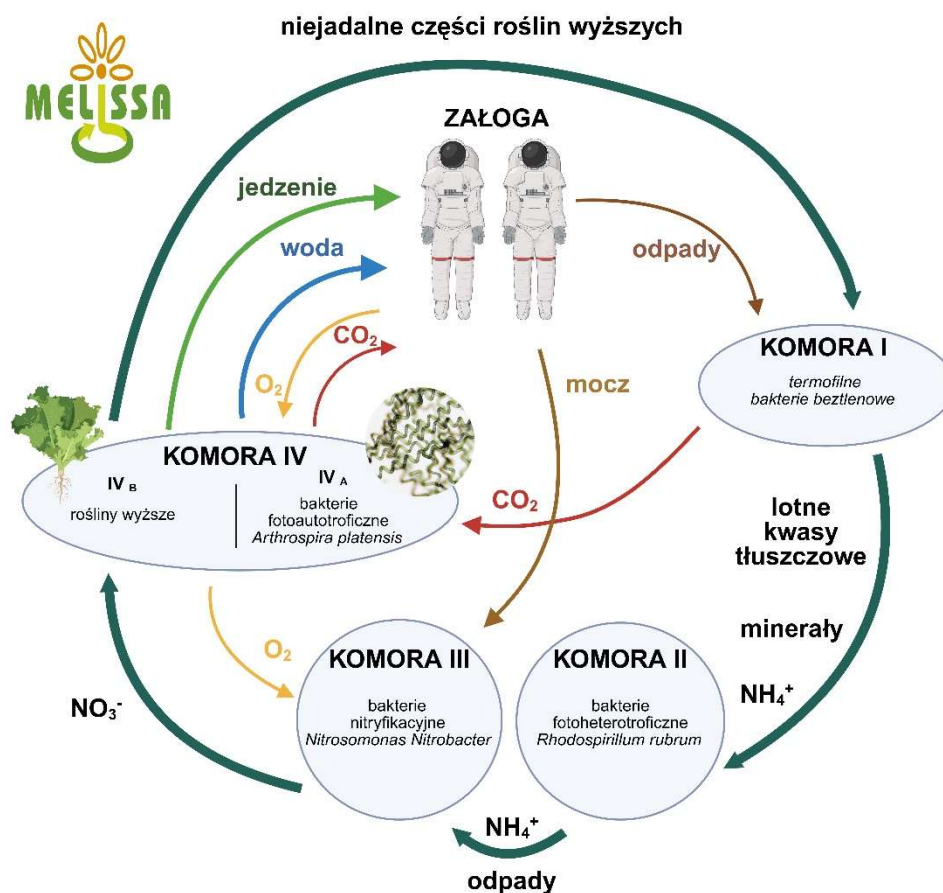
Podobne podejście technologiczne zostało zastosowane w opracowaniu eksperymentu "Space Volcanic Algae" (Ministerstwo Rozwoju i Technologii, 2024). Projekt jest realizowany przez firmę ExtremoTechnologies. Celem eksperymentu jest zbadanie zdolności mikroglonów wulkanicznych do przetrwania i adaptacji w warunkach kosmicznych, co ma istotne znaczenie dla przyszłych misji kosmicznych oraz zastosowań w obiegu zamkniętym i medycynie kosmicznej. To pierwsza polska misja z udziałem mikroglonów na Międzynarodowej Stacji Kosmicznej (ISS) (Ministerstwo Rozwoju i Technologii, 2024). Badania zostaną przeprowadzone w ramach misji "IGNIS", pierwszej polskiej misji technologiczno-naukowej na ISS. 25 czerwca 2025 r. o godzinie 8:31 czasu polskiego z przylądka Canaveral wystartowała

rakieta Falcon 9 z kapsułą Dragon, wynosząc astronautów w przestrzeń kosmiczną. W misji bierze udział polski astronauta dr inż. Sławosz Uznański-Wiśniewski, który pełni funkcję specjalisty. Misja "IGNIS" reprezentuje znaczący krok dla polskich ambicji kosmicznych, podkreślając rosnący wkład Polski w eksplorację kosmosu (Ministerstwo Rozwoju i Technologii, 2024).

W kontekście badań nad mikroorganizmami wykorzystywanymi w systemach podtrzymywania życia w przestrzeni kosmicznej, projekt MELiSSA dotyczy istotnego elementu w opracowywaniu zintegrowanych, zamkniętych systemów biologicznych, mogą wspierać długotrwałe misje kosmiczne (Frossard i in., 2024; Izzo i in., 2024; Lasseur i in., 2010, 2023). Inicjatywa ta ma na celu stworzenie autonomicznych systemów zdolnych do przetwarzania odpadów organicznych oraz innych materiałów w zasoby niezbędne do życia, takie jak żywność, woda i tlen. Głównym celem projektu MELiSSA jest odwzorowanie i adaptacja ekosystemów Ziemi, w których procesy biologiczno-chemiczne pozwalają na zamknięcie cykli materii i energii, zapewniając równowagę ekologiczną w zamkniętych środowiskach (Lasseur i in., 2010). Zintegrowane procesy biologiczne, obejmujące między innymi zielenice, sinice oraz bakterie, odgrywają kluczową rolę w utylizacji zanieczyszczeń, w tym odpadów organicznych, oraz w regeneracji zasobów naturalnych w systemach kosmicznych. Projekt ten zmierza do minimalizacji zależności od zewnętrznych dostaw z Ziemi, maksymalizując jednocześnie wykorzystanie dostępnych zasobów, odpady organiczne, co jest kluczowe dla długoterminowej egzystencji ludzi poza Ziemią (Lasseur i in., 2010).

MELiSSA jest również prototypem zaawansowanych technologii biotechnologicznych, mogą znaleźć zastosowanie w przyszłych misjach kosmicznych, w tym w odniesieniu do eksploracji Marsa. Badania realizowane w ramach tego projektu wymagają interdyscyplinarnego podejścia, łącząc wiedzę z zakresu mikrobiologii, inżynierii bioprosesowej, ekologii oraz technologii kosmicznych, w ramach stworzenia systemów zdolnych do funkcjonowania w trudnych warunkach kosmicznych. Rysunek 2 obrazuje biologiczny system zaprojektowany w ramach podtrzymania życia w zamkniętych ekosystemach, takich jak te wykorzystywane w misjach kosmicznych. Składa się on z pięciu głównych modułów, mających na celu efektywne przetwarzanie odpadów w zasoby niezbędne do życia, takie jak tlen, woda i żywność. Moduł I dotyczy rozkładu odpadów organicznych, takich jak ścięki i resztki roślinne, na prostsze związki chemiczne przy udziale bakterii beztlenowych. Proces ten prowadzi do wytworzenia gazów, w tym CO₂, który jest potencjalnie dalej wykorzystywany w innych częściach systemu. Moduł II zajmuje usuwaniem zanieczyszczeń węglowych z gazów powstałych w module pierwszym. Bakterie

fotoheterotroficzne wykorzystują energię świetlną do konwersji związków węgla w prostsze substancje organiczne, co pozwala na dalsze przetwarzanie ich w systemie.



Rysunek 2 Koncepcja biologicznego systemu podtrzymania życia w warunkach pozaziemskich MELiSSA. Stworzone za pomocą BioRender.com

Moduł III dotyczy przekształcania amoniaku (NH₃) w azotany (NO₃), mogą być wykorzystane przez rośliny. Nitryfikacja jest przeprowadzana przez bakterie nitryfikacyjne, które utleniają amoniak, co umożliwia dalsze wykorzystanie azotu w systemie. Moduł IV opiera się na fotosyntezie. W tym etapie mikroglony oraz rośliny wyższe przeprowadzają fotosyntezę, wykorzystując CO₂ i światło do produkcji biomasy, O₂ i H₂O. Tlen wytwarzany w tym procesie jest niezbędny do podtrzymywania życia astronautów, a biomasa jest potencjalnym wykorzystywana jako np. żywność czy nawóz. Moduł V reprezentuje załogę. W tym module zawierają się astronauty, którzy korzystają z zasobów wytworzonych przez pozostałe moduły, takich jak tlen, żywność i woda. Odpady organiczne produkowane przez załogę trafiają z powrotem do systemu, rozpoczynając cykl od nowa.

2.6. Regolity marsjańskie i księżycowe oraz ich symulanty - właściwości i zastosowanie

Słowo regolit pochodzi z języka greckiego. Powstało ono z połączenia dwóch słów: *rhegos*, czyli koc oraz *lithos* oznaczające kamień (Etym Online). Obecnie jest to pojęcie geologiczne oznaczające warstwę rozdrobnionego i nieskonsolidowanego materiału skalnego, który reprezentuje najwyższą warstwę terenu pokrywając skałę macierzystą (Kaczmarzyk, 2024). Regolit może powstawać z materiału rodzimego bądź zdeponowanego, dlatego też jego poszczególne ziarna mogą mieć inny charakter (Heiken i in., 1991). W przypadku ciał pozbawionych atmosfery nazwa regolit odnosi się do warstwy materiału oddzielającego świeżą skałę macierzystą od przestrzeni kosmicznej (Kaczmarzyk, 2024). Znajomość głównych właściwości fizycznych i mechanicznych, jak również znajomość składu granulometrycznego i chemicznego regolitu, są niezbędne do prowadzenia badań nad możliwością wykorzystania go do uprawy roślin (Fackrell i in., 2024). To poziom żyzności gleby determinuje wielkość i jakość plonów. Rośliny wymagają ściśle określonych poziomów składników odżywczych w glebie, które mogą łatwo wykorzystać podczas wzrostu. Regolit jest materiałem o ograniczonej zawartości składników niezbędnych do wzrostu roślin, co czyni go bardzo jałowym (Wamelink i in., 2014). Brak materii organicznej, w tym węgla, jest jedną z głównych barier w wykorzystaniu go do uprawy roślin. Jest ubogi w pierwiastki biogenne, takie jak azot, fosfor i potas, które są kluczowe dla wzrostu roślin (Wamelink i in., 2014). W związku z tym, wykorzystanie regolitu jako medium do uprawy roślin wymaga intensywnych modyfikacji, takich jak wzbogacenie go w materię organiczną i składniki odżywcze.

2.6.1. Regolit marsjański

Dane dotyczące składu chemicznego regolitu marsjańskiego pochodzą z analiz przeprowadzonych przez sondy orbitujące wokół Marsa oraz łaziki operujące na jego powierzchni. Skład regolitu marsjańskiego wykazuje duże podobieństwo do skał bazaltowych. Jego głównymi składnikami są piroksen, plagioklaz, oliwin oraz mieszanina tlenków żelaza i tlenków żelazowo-tytanowych (Blake i in., 2013). Skład regolitu różni się nieco w zależności od lokalizacji próbek, co zostało udokumentowane przez dane uzyskane z misji Viking 1 i Viking 2.

Tabela 2 Charakterystyka chemiczna regolitu marsjańskiego pochodzącego z próbek z Viking 1 i Viking 2 (B. C. Clark i in., 1982), Pathfinder (Foley i in., 2003), Spirit (Brückner i in., 2008), Opportunity (Brückner i in., 2008) oraz Curiosity (Blake i in., 2013; Gellert i in., 2013).

Instrument	Viking 1	Viking 2	Pathfinder	Spirit	Opportunity	Curiosity
Parametr	[% wag.]					
SiO₂	44,00	43,00	40,90	46,30	46,30	50,70
TiO₂	0,62	0,54	0,70	0,86	1,04	0,73
Al₂O₃	7,30	7,00	10,40	9,89	9,26	16,40
Cr₂O₃	-	-	0,30	0,31	0,45	0,00
Fe₂O₃	17,50	17,30	21,20	16,00	18,80	10,10
MnO	-	-	0,50	0,33	0,37	0,13
MgO	6,00	6,00	8,70	8,34	7,58	3,05
CaO	5,70	5,70	6,10	6,36	7,31	6,12
Na₂O	-	-	3,20	2,80	1,83	6,55
K₂O	<0,50	<0,50	0,50	0,48	0,47	2,33
P₂O₅	-	-	0,90	0,87	0,83	0,42
SO₃	6,70	7,90	6,00	6,61	4,99	2,50
Cl	0,80	0,40	0,70	0,78	0,63	0,77

Łaziki na Marsie są wyposażone w zaawansowane instrumenty analityczne do badania próbek regolitu bezpośrednio na jego powierzchni (Brückner i in., 2008). Umożliwia to dokładniejszą analizę składu wierzchniej warstwy tej planety. Jak dotąd, próbki regolitu marsjańskiego były analizowane między innymi przez: Pathfinder, Spirit, Opportunity, Curiosity (Foley i in., 2003; Brückner i in., 2008; Gellert i in., 2013). Dodatkowo, warto zauważyć, że sondy kosmiczne, takie jak Phoenix, również miały istotny wkład w badania chemiczne powierzchni Marsa (Smith i in., 2009). Misja Phoenix, która wylądowała na Marsie 21 czerwca 2008 roku, była pierwszą, która potwierdziła obecność wody w postaci lodu na powierzchni tej planety (Smith i in., 2009). Lądownik przesłał zdjęcia wgłębienia, które wykopał swym automatycznym ramieniem w regolicie na obszarze Vastitas Borealis (дно pierwotnego oceanu Marsa). Widoczne były na nich kawałki białego materiału kształtu kostki, które uległy sublimacji między 16 a 19 czerwca 2008 roku. 31 lipca 2008 roku testy laboratoryjne na pokładzie sondy Phoenix wykazały istnienie wody w próbce regolitu. Analiza próbek zebranych przez Phoenix pozwoliła na identyfikację różnych związków chemicznych, w tym soli i minerałów, mogą wskazywać na historyczną obecność wody w stanie ciekłym w

przeszłości Marsa (Smith i in., 2009). W tabeli 2 zawarto dane dotyczące składu zebranych próbek. Każdy łazik analizował próbki pobrane z różnych miejsc na Marsie, prowadząc do uzyskania zróżnicowanych wyników składu chemicznego w zależności od lokalizacji próbek. W tabeli 2 przedstawiono także wyniki analiz składu chemicznego powierzchni Marsa na podstawie danych z misji Viking 1 i Viking 2, uwzględniając zawartość głównych tlenków w próbkach. Pomimo pewnych różnic w zawartości siarki (SO_3) oraz chloru (Cl), które są wyższe w próbkach z Viking 2, generalnie skład chemiczny regolitu pozyskany w ramach obu misji był zbliżony.

2.6.2. Regolit księżycowy

Pierwsze dane na temat charakterystyki regolitu księżycowego uzyskano za pomocą sprzętu naziemnego, mianowicie teledetekcji w zakresie fal radiowych, optycznych i termalnych (Krotikov i Troitskii, 1963). Dokładny skład chemiczny regolitu pokrywającego powierzchnię Księżyca dostarczyły dopiero misje programu Apollo, które miały miejsce w latach 1966-1972, podczas których na Ziemię przywieziono łącznie ponad 380 kg regolitu księżycowego (Schreiner i in., 2016).

Księżyc składa się głównie ze skał takich jak plagioklaz, piroksen, oliwin i ilmenit (Runcorn i in., 1970). Z danych przedstawionych w tabeli 3 wynika, że wierzchnia warstwa Księżyca składa się w głównej mierze z krzemu w około 50%. Dużą część zajmuje także aluminium (około 25-15%), które jest metalem ciężkim i wykazuje działanie toksyczne w stosunku do roślin przy zbyt wysokich stężeniach (Ofae i in., 2023). Kolejnym pierwiastkiem występującym w dość dużej ilości jest żelazo. Chodź jest to element kluczowy w procesie fotosyntezy przeprowadzanej przez rośliny (Rout i Sahoo, 2015), jego nadmiar także wpływa negatywnie na wzrost roślin. Azot, potas i fosfor, czyli pierwiastki biogenne, występują w regolicie w ilościach śladowych (Wamelink i in., 2019). Stąd też uprawa roślin wyższych na regolicie to wyzwanie, które wymaga przygotowania go od wykorzystania jako podłoże do produkcji pożywienia.

Tabela 3 Skład chemiczny próbek regolitu księżycowego uzyskanych z misji programu Apollo (wt. %). Na podstawie danych pochodzących z (Zarzycki i Katzer, 2019).

Nazwa próbki	Parametr [% wag.]									
	SiO ₂	TiO ₂	Al ₂ O ₃	FeO	MgO	MnO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	P ₂ O ₅
Apollo 11	42,10	7,80	13,70	15,80	7,90	0,20	12,00	0,50	0,10	0,10
	42,20	7,80	13,60	15,30	7,80	0,20	11,90	0,47	0,16	0,05
Apollo 12	46,60	3,60	14,20	15,40	9,70	0,22	10,40	0,43	0,24	0,16
	46,00	2,80	12,50	17,20	9,70	0,22	10,90	0,48	0,24	0,16
Apollo 14	48,20	1,73	17,60	10,41	9,26	0,14	11,25	0,61	0,51	0,53
	47,30	1,60	17,80	10,50	9,60	0,10	11,40	0,70	0,60	0,16
	48,10	1,70	17,40	10,40	9,40	0,14	10,70	0,70	0,55	0,51
Apollo 15	46,95	1,60	12,70	16,29	10,75	0,22	10,49	0,33	0,09	0,16
Apollo 16	45,35	0,49	28,25	4,55	5,02	0,06	16,21	0,42	0,09	0,10
	45,20	0,58	26,40	5,29	6,10	0,70	15,32	0,52	0,14	0,12
	44,65	0,56	27,00	5,49	5,84	0,70	15,95	0,44	0,13	0,10
	44,90	0,47	27,70	5,01	5,69	0,24	15,70	0,51	0,22	0,16
	44,77	0,37	28,99	4,35	4,20	0,07	16,85	0,44	0,06	0,05
	45,00	0,54	27,30	5,10	5,70	0,30	15,70	0,46	0,17	0,11
Apollo 17	41,67	6,52	13,57	15,37	10,22	0,21	11,18	0,34	0,09	0,06
	39,82	9,52	11,13	17,41	9,510	0,250	10,85	0,320	0,070	0,060
	40,09	9,32	10,70	17,85	9,920	0,240	10,59	0,360	0,080	0,070
	42,20	5,09	15,70	12,40	10,30	0,150	11,50	0,240	0,070	0,156

Struktura regolitu księżycowego charakteryzuje się drobnoziarnistością i brakiem cząsteczkowej wody. Cząstki regolitu mają średnicę od kilku mikrometrów. Regolit występuje w postaci nieregularnych cząsteczek, które powstały w wyniku rozkruszenia większych fragmentów skał przez uderzenia meteoroidów (Kaczmarzyk, 2024). Powierzchnia Księżyca bowiem jest wystawiona na ciągłe uderzenia małych i mikrometeoroidów, prowadząc do rozdrabniania, topnienia, odparowywania i zlepiania materiału skalnego (Meyer, 2002). Z tego względu regolit z warstw położonych głębiej charakteryzuje się inną strukturą. W regolicie znajdującym się przy powierzchni obserwuje się nawet 65% więcej aglutynatów (Kaczmarzyk, 2024). Aglutynaty to unikatowe twory petrologiczne, występowanie których jak dotąd stwierdzono jedynie na Księżycu. Mają postać drobnych (<1 mm), ostrokrawędzistych ziaren o mocno nieregularnych kształtach, mogących zawierać otwarte pory. Składają się one z jeszcze drobniejszych, częściowo stopionych różnorodnych ziaren, sklejonych razem przez szkliwo impaktowe (Kaczmarzyk, 2024).

2.6.3. Symulanty regolitu

Ilość dostępnego regolitu księżycowego jest niewielka zaś regolit z Marsa jeszcze nigdy nie dotarł na Ziemię. Ze względu na brak autentycznych próbek regolitu marsjańskiego, jak i mocno ograniczone zasoby regolitu pochodzącego z Księżyca, do wszelkiego rodzaju badań, zarówno nad możliwością produkcji materiałów budowlanych (Hu i in., 2022), analiz wpływu ziaren na poszczególne elementy maszyn, które w przyszłości będą pracowały poza Ziemią (Sullivan i in., 2011), w ośrodkach badawczych i uniwersytetach wykorzystywane są symulanty. Materiał ten posiada cechy zbliżone do oryginalnego gruntu. Otrzymywane jest przez odtworzenie specyficznych właściwości fizykochemicznych powierzchni pokrywającej pozaziemskie ciała niebieskie. W badaniach realizowanych w ramach pracy doktorskiej wykorzystano symulanty regolitów księżycowych i marsjańskich o symbolach JSC-1A, MMS oraz MGS i AGK-2010.

JSC-1A jest to symulant regolitu księżycowego opracowany przez NASA Johnson Space Center w 1994 roku (Mckay i in., 1994). Powstał na bazie popiołu wulkanicznego pochodzącego z obszaru Arizony, który został zmodyfikowany w ramach odwzorowania składu chemicznego i właściwości fizycznych regolitu zebranego podczas misji Apollo (Mckay i in., 1994). JSC-1A jest szeroko stosowany w badaniach związanych z eksploracją Księżyca, w tym w testach dotyczących produkcji żywności, produkcji tlenu z regolitu, budowy struktur księżycowych oraz wpływu pyłu księżycowego na sprzęt techniczny (Alshibli i Hasan, 2009; Sakatani i in., 2018).

MMS-1 (Mars Mojave Simulant) to symulant regolitu marsjańskiego opracowany przez zespół naukowców z NASA Jet Propulsion Laboratory (JPL) oraz California Institute of Technology (Caltech). Prace nad tym symulantem były prowadzone we współpracy z University of California, Riverside (Peters i in., 2008). Symulant jest tworzony na bazie skał pochodzących z pustyni Mojave w Kalifornii, które zostały wyselekcjonowane ze względu na podobieństwo do marsjańskich skał bazaltowych (Peters i in., 2008). Skład chemiczny i właściwości fizyczne MMS są zbliżone do tych, które charakteryzują regolit z regionu Meridiani Planum na Marsie. Symulant ten jest wykorzystywany m.in. w badaniach nad możliwością uprawy roślin w marsjańskim gruncie oraz w testach związanych z eksploracją Czerwonej Planety (Caporale i in., 2020).

MGS-1 (Mars Global Simulant) czyli symulant regolitu marsjańskiego, opracowany w Centrum Kosmicznym na Uniwersytecie w Centralnej Florydzie (UCF, University of Central Florida) w 2018 roku (Sun i in., 2023). Symulant ten jest często wykorzystywany w badaniach

inżynierskich, w tym w testach związanych z projektowaniem łazików marsjańskich oraz analizą wpływu pyłu marsjańskiego na systemy mechaniczne i elektroniczne a także badaniach rolniczych. W tabeli 4 przedstawiono zestawienie znanych symulantów marsjańskich i księżycowych.

AGK-2010 to pierwszy polski symulant gruntu księżycowego. Został opracowany w Katedrze Wiertnictwa i Geoinżynierii na Wydziale Wiertnictwa, Nafty i Gazu Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie. Prace nad nim prowadzono we współpracy z Centrum Badań Kosmicznych Polskiej Akademii Nauk w Warszawie, gdzie prowadzone są liczne badania z wykorzystaniem symulantów regolitu księżycowego. Celem badań było obniżenie kosztów badań nad urządzeniami wykorzystywanymi w przyszłości do pobierania regolitu (Seweryn i in., 2014, 2019) poprzez wyprodukowanie polskiego zamiennika amerykańskiego symulanta regolitu księżycowego. Wzorcami były symulanty regolitu księżycowego CHENOBI i JSC-1A, które są produkowane w USA. Podczas opracowywania polskiego odpowiednika skupiono się na porównaniu składu granulometrycznego, właściwości fizycznych (gęstość nasypowa, barwa) oraz mechanicznych (wytrzymałość na ścinanie, kąt tarcia wewnętrznego, kohezja) według normy PN-EN ISO 14688-1. Ważnym elementem badań była ostrokrawędzistość ziaren minerałów regolitu księżycowego. Symulant nie odwzorowywał charakterystyki poszczególnych związków chemicznych.

Tabela 4 Zestawienie znanych symulantów księżycowych i marsjańskich.

Kategoria	Nazwa symulanta	Referencja
Polski symulant księżycowy	AGK-2010	(Bednarz i in., 2013)
Symulanty księżycowe	JSC-1/1A/1AF/1AC/2A	(Mckay i in., 1994)
	OPRL2N/L2W	(Mckay i in., 1994)
	MLS-1/1P	(Weiblen i in., 1990)
	FJS-1/2/3	(Kanamori i in., 1889)
	BP-1	(Suescun-Florez i in., 2015)
	LMS-1	(Long-Fox i in., 2023)
	TUBS-M	(Linke i in., 2020)
	LHS-1	(Long-Fox i in., 2023)
	OB-1	(Battler i Spray, 2009)
	NU-LHT-1M/2M/3M/1D/2C	(Chang i Ann, 2019)
	OPRL2N/H2W	(Mckay i in., 1994)
	OPRL2N/H3W	(Mckay i in., 1994)
	NAO-1	(Y. Li i in., 2009)
	TUBS-T	(Linke i in., 2020)
	JLU-H	(X. Sun i in., 2022)
Symulanty marsjańskie	MGS-1/1S/1C	(Y. Sun et al., 2023)
	MMS-1	(Peters i in., 2008)
	JSC-RN	(J. V. Clark i in., 2020)
	JEZ-1	(Yin i in., 2021)
	NEU Mars-1	(Guan i in., 2020)
Symulanty księżyca Marsa Fobosa	PGI-1	(Landsman i in., 2021)
	PCA-1	(Landsman i in., 2021)
Symulanty asteroid	IRS-1	(Zeng i in., 2019)

2.7. Sposoby nawożenia symulantów regolitów i ich porównanie

Zapewnienie odpowiedniej ilości składników odżywczych niezbędnych do prawidłowego wzrostu roślin jest kluczowe w aspekcie produkcji żywności. Transport nawozów z Ziemi na księżyc lub Marsa jest całkowicie nieuzasadniony ekonomicznie (Fackrell i in., 2024). Produkcja nawozów in-situ (na miejscu) na księżycu lub Marsie pozwoli uniknąć kosztów transportu i zapewni jego dostępność przez cały okres przebywania człowieka w habitacie księżycowym bądź marsjańskim (Fackrell i in., 2024). Ciągłość dostępu do nawozu

znacznie przyspiesza proces uprawy oraz eliminuje ryzyko utraty zasobów nawozowych, które mogą zostać zniszczone w transporcie przez ewentualną awarię statku kosmicznego. Ciągły i niezawodny dostęp do składników odżywczych stwarza potencjał dla samowystarczalnego systemu rolniczego w ekosystemach pozaziemskich, co jest kluczowe dla długoterminowej eksploracji i kolonizacji kosmosu (Chen i in., 2021). Alternatywą dla nawozów sztucznych jest stosowanie różnego rodzaju nawozów organicznych, takich jak obornik, kompost, czy naturalne preparaty bogate w składniki odżywcze, które pozyskiwane są z roślin, zwierząt czy mikroorganizmów (Osorio-Reyes i in., 2023; Ray i in., 2013; Sachdeva i in., 2018).

Przeprowadzono eksperyment, w którym ziemniaki (*Solanum tuberosum* L.) wyhodowano na symulowanym marsjańskim regolicie MMS-1, wykorzystując jako główne źródło nawożenia komercyjny kompost symulujący odpady organiczne powstające podczas misji na Marsa (ekskreменты oraz pozostałości po zbiorach roślin uprawnych) (Caporale i in., 2023). Wzrost ziemniaków na symulancie MMS-1 był ograniczony. Rozwój liści oraz całkowita biomasa części nadziemnej rośliny uprawianej na tym symulancie były niższe w porównaniu z pozostałymi podłożami. Jednak dodatek zielonego kompostu spowodował wzrost zarówno liczby liści, jak i ich powierzchni, co przełożyło się na zwiększenie całkowitej powierzchni liści o 74% oraz suchej masy o 55% (Caporale i in., 2023).

Inne badania wskazują na możliwość wykorzystania obornika do nawożenia podłoży kosmicznych. W artykule zbadano skuteczność nawożenia obornika pochodzącego od zwierząt monogastrycznych użytego do nawożenia dwóch symulantów regolitów: marsjańskiego MMS-1 i księżycowego LHS-1 w oparciu o wzrost sałaty *Lactuca sativa* L. (Duri i in., 2022). Najwyższą wartość odnotowano w przypadku zabiegu, w którym symulant regolitu marsjańskiego MMS-1 został zmieszany z 30% obornika, natomiast w przypadku symulanta księżycowego (LHS-1) najwyższe plony uzyskano przy pośrednich dawkach obornika wynoszących 10% i 30%. W kontekście produkcji świeżej biomasy, substraty składające się z MMS-1 odnotowały wyższe plony niż LHS-1; rośliny uprawiane na mieszance 70:30 MMS-1/obornik wytworzyły najwyższą biomasę liści. Ponadto zaobserwowano wzrost zawartości luteiny i β -karotenu o 181 i 263%, odpowiednio, przy zastosowaniu najwyższego procentu obornika (50%) w porównaniu z czystymi symulantami lub mniej zmodyfikowanymi mieszankami. Podłoże składające się 50:50 MMS-1/obornik zawierało również największe ilości pojedynczych i całkowitych kwasów organicznych (Duri i in., 2022).

Innym źródłem związków biogenych wspomagających wzrost roślin na pozaziemskich symulantach regolitów jest wykorzystanie gnojowicy świńskiej i dżdżownic (Wamelink i in., 2022). W ramach tych badań zespół naukowców przeprowadził eksperyment z wykorzystaniem

dżdżownic (*Caligonella* i *Dendrobaena veneta*) jako wsparcie uprawy rukoli (*Eruca sativa*) na symulancie regolitu marsjańskiego (MMS). Dodatek gnojowicy spowodował zwiększenie zebranego plonu rukoli (średnio 15,77g świeżej masy i 3,09g suchej masy). Dżdżownice przeżyły w symulancie regolitu marsjańskiego i wykazywały aktywność biologiczną, lecz nie miały istotnego wpływu na wzrost rukoli w okresie trwania eksperymentu (Wamelink i in., 2022).

Zapotrzebowanie na niezbędne składniki odżywcze można również uzyskać poprzez dodanie materii organicznej. Wykorzystano między innymi świeżą skoszoną trawę *Lolium perenne* L. (Wamelink i in., 2021). Trawę pocięto na małe kawałki o długości około 1-4 cm, a następnie zmieszano z symulantem regolitu w ilości 267 g ś.m. trawy na 7,5 dm³ każdego z symulantów regolitów. Podczas eksperymentu co tydzień dodawano składniki odżywcze imitujące ludzkie ekskrementy. Do tego eksperymentu zostało wybrane dziesięć różnych gatunków roślin uprawnych. W rezultacie zebrano rzodkiewki oraz nasiona rzodkiewki, rzeżuchę i nasiona rzeżuchy, ziarno żyta, rukolę, pomidory i groch na symulantach regolitu księżycowego i marsjańskiego oraz organicznej glebie ziemskiej (kontrola). Szczypior i por rosły równomiernie, ale w niskim tempie na wszystkich trzech podłożach uprawowych. Komosa ryżowa rosła dobrze i wytworzyła kwiaty, ale nie wytworzyła żadnych nasion. Jedynym gatunkiem, który nie wyrósł prawidłowo na żadnej z gleb, był szpinak; rośliny zaczęły kwitnąć po wytworzeniu zaledwie kilku małych liści. Całkowita biomasa nadziemna była najwyższa w przypadku próby kontrolnej na glebie ziemskiej i najniższa w przypadku symulanta regolitu księżycowego. Jednakże plon pozyskany z podłoża symulującego regolit marsjański nie różnił się znacząco od plonu zebranego z podłoża kontrolnego lub symulanta regolitu księżycowego. Zebrana sucha biomasa na symulancie regolitu księżycowego była niższa niż w przypadku kontroli na Ziemi (Wamelink i in., 2021).

Innym rozwiązaniem jest potencjalne wykorzystanie mikroglonów jako źródła składników odżywczych niezbędnych do prawidłowego wzrostu roślin. Liczne badania potwierdzają pozytywny wpływ bionawozów na bazie mikroglonów na produktywność upraw w rolnictwie ziemskim, wspierając poprawy jakości gleby i ograniczenia negatywnego wpływu konwencjonalnych metod nawożenia na środowisko (Ammar i in., 2022a). Dzięki wysokiej zawartości łatwo przyswajalnych makro- i mikroelementów, mikroglony stanowią zrównoważoną alternatywę dla syntetycznych nawozów, wspierając rolnictwo ekologiczne. Pomimo szeroko udokumentowanych korzyści wynikających z zastosowania mikroglonów w rolnictwie ziemskim, ich potencjał w odniesieniu do użyźniania symulantów regolitów pozostaje w dużej mierze niezbadany. Analiza dostępnej literatury wskazuje na niedobór badań

eksperymentalnych w tym zakresie. Przeważają publikacje o charakterze teoretycznym, koncentrujące się głównie na modelowaniu potencjalnych zastosowań mikroglonów w rekultywacji oraz poprawie właściwości fizykochemicznych symulantów regolitów księżycowych i marsjańskich (Fackrell i in., 2021; Kanazawa i in., 2008; Keller i in., 2023). Brak empirycznych danych dotyczących efektywności tych organizmów w warunkach analogicznych do środowiska pozaziemskiego podkreśla potrzebę dalszych badań, które pozwolą na ocenę rzeczywistego potencjału mikroglonów jako czynnika wspomagającego uprawę roślin w ramach systemów podtrzymywania życia w przyszłych misjach kosmicznych.

Pomimo postępującego rozwoju badań nad różnorodnymi biotechnologiami, które mogłyby przyczynić się do poprawy właściwości symulantów regolitów, brakuje badań eksperymentalnych, które mogłyby dostarczyć wiarygodnych danych na ten temat. Analiza istniejącej literatury ujawnia lukę w badaniach, co reprezentuje znaczną przeszkodę dla dalszego zrozumienia efektywności i mechanizmów działania mikroglonów w procesie użyźniania gleb, zwłaszcza w odniesieniu do ich potencjalnych zastosowań w warunkach ekstremalnych. W związku z tym, dalsze badania eksperymentalne są niezbędne w ramach oceny rzeczywistych możliwości wykorzystania mikroglonów i sinic do poprawy jakości symulantów regolitów, co mogłoby w konsekwencji przyczynić się do zrównoważonego rozwoju rolnictwa kosmicznego.

2.8. Rośliny wskaźnikowe

Rośliny wskaźnikowe, często określane również jako rośliny modelowe w kontekście eksperymentalnym, stanowią fundamentalne narzędzie w badaniach biologicznych i biotechnologicznych (Terwayet Bayouli i in., 2021). Ich wybór opiera się na zestawie ściśle określonych kryteriów, takich jak: stosunkowo niewielki i dobrze poznany genom, krótki cykl życiowy, łatwość uprawy w warunkach kontrolowanych, wysokie współczynniki transformacji genetycznej oraz szeroka dostępność danych molekularnych, fizjologicznych i bioinformatycznych. Rośliny te służą jako reprezentatywne systemy modelowe umożliwiające analizę podstawowych procesów biologicznych, które są następnie przekładalne na inne gatunki, w tym rośliny uprawne o większym znaczeniu gospodarczym.

W ostatnich latach coraz częściej wykorzystuje się rośliny modelowe reprezentujące różne grupy funkcjonalne i użytkowe. Przykładem jest *Lactuca sativa* L., należąca do rodziny astrowatych (Asteraceae, syn. Compositae). Jest to jedno z najczęściej uprawianych warzyw liściastych na świecie, cenione ze względu na wysoką wartość odżywczą, krótki cykl wzrostu

oraz zdolność adaptacji do różnorodnych warunków środowiskowych (Ahmed i in., 2021). Pod względem składu chemicznego 100 g świeżej masy sałaty zawiera około 95 g wody, 1 g białka, 3 g węglowodanów, 22 mg wapnia oraz 25 mg fosforu, a jej wartość energetyczna wynosi około 15 kcal (Ahmed i in., 2021). Ponadto, liście sałaty są źródłem witamin, w tym witaminy A, C, K oraz folianów, co czyni ją istotnym elementem diety człowieka (Maestre-Valero i in., 2018). Zawiera również związki bioaktywne, takie jak flawonoidy i polifenole, wykazujące właściwości przeciwutleniające i przeciwzapalne, co sprawia, że roślina ta jest badana w odniesieniu do zastosowań farmaceutycznych i nutraceutycznych (Trojanowska, 2005).

Sałata jest rośliną reagującą na zmiany składu podłoża oraz dostępność składników odżywczych, co umożliwia precyzyjną ocenę efektywności nawożenia i wpływu różnych typów podłoży na wzrost roślin (Pizarro i in., 2019). Dzięki temu reprezentuje czuły bioindykator zmian środowiskowych, pozwalający na szybkie wykrycie deficytów pokarmowych lub obecności czynników stresowych. Kolejną cechą jest krótki cykl wegetacyjny. Okres wzrostu sałaty wynosi od 20 do 60 dni w zależności od odmiany i warunków uprawowych, co umożliwia stosunkowo szybkie przeprowadzenie eksperymentów i uzyskanie danych dotyczących adaptacji roślin do nowych warunków (Barbosa i in., 2015). Jest to szczególnie istotne w badaniach nad przyszłymi systemami upraw w warunkach kosmicznych, gdzie szybki wzrost biomasy jest kluczowy dla wydajności systemów podtrzymywania życia.

Sałata jest szeroko wykorzystywana w eksperymentach dotyczących optymalizacji metod nawożenia (Chowdhury i in., 2019) oraz technologii uprawy (Barbosa i in., 2015). Kolejnym aspektem jest fakt, iż sałata była jedną z pierwszych roślin testowanych w warunkach mikrogravitacji. Przykładem jest eksperyment przeprowadzony na pokładzie Międzynarodowej Stacji Kosmicznej (ISS) w ramach projektu Veggie, który wykazał możliwość jej uprawy w warunkach niskiej grawitacji oraz ocenił wpływ warunków kosmicznych na wartość odżywczą i właściwości organoleptyczne liści (Khodadad i in., 2020). Wyniki tych badań sugerują, że sałata może stanowić jeden z podstawowych gatunków roślin uprawianych w przyszłych habitatów kosmicznych. Sałata wykazuje potencjał do uprawy w zamkniętych systemach, w tym biologicznych systemach podtrzymywania życia (BLSS). Przykładem takiego systemu jest MELiSSA, który reprezentuje innowacyjne rozwiązanie w zakresie regeneracji zasobów i produkcji żywności w trudnych warunkach, takich jak misje kosmiczne. W tych systemach rośliny odgrywają kluczową rolę w recyklingu składników odżywczych i produkcji tlenu, co jest istotne dla długoterminowych misji załogowych (Moroz i in., 2020).

3. Cel, hipotezy i zakres badań

Cel badań:

Celem badań było określenie możliwości wykorzystania biomasy mikroglonów *Chlorella vulgaris* oraz sinic *Arthrospira platensis* wyhodowanej na medium spreparowanym ze ścieków bytowych w procesie nawożenia symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych w celu uzyskania poprawy ich potencjału uprawowego w oparciu o analizę plonu sałaty masłowej (*Lactuca sativa* L.).

Hipotezy badawcze:

1. Istnieje możliwość wykorzystania ścieków bytowych w procesie namnażania mikroglonów (*C. vulgaris*) i sinic (*A. platensis*), o charakterystyce biomasy umożliwiającej wykorzystanie do nawożenia symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych.
2. Zasilanie regolitów marsjańskich i księżycowych biomasą mikroglonów i sinic pozwoli na poprawienie efektów końcowych uprawy rośliny wskaźnikowej *Lactuca sativa* L.

Zakres badań:

- określenie wydajności przyrostu biomasy mikroglonów z gatunku *C. vulgaris* oraz sinic z gatunku *A. platensis* w fotobioreaktorach,
- ocena efektywności usuwania zanieczyszczeń ze ścieków bytowych w procesie produkcji biomasy *C. vulgaris* oraz *A. platensis*,
- charakterystyka uzyskanej biomasy testowanych gatunków mikroglonów i sinic pod kątem wartości nawozowych,
- określenie wpływu dawki nawozowej testowanej biomasy mikroglonów i sinic wprowadzanej do symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych na obserwowaną wielkość plonu stosowanej rośliny wskaźnikowej *Lactuca sativa* L.
- weryfikacja wpływu stosowanego podłoża, testowanego rodzaju symulanta regolitu na wielkość przyrostu części nadziemnej i podziemnej biomasy *Lactuca sativa* L.

4. Metodyka badań

4.1. Ogólna koncepcja badań

Doświadczenia podzielono na dwa etapy (E). W etapie pierwszym (E1) analizowano efektywność produkcji biomasy mikroglonów i sinic oraz skuteczność usuwania zanieczyszczeń z medium hodowlanego opartego na ściekach bytowych. W tej części badań analizowano dynamikę wzrostu biomasy, końcową koncentrację mikroorganizmów w medium hodowlanym, dokonano charakterystyki składu uzyskanej biomasy, w tym wartości nawozowych (N, P, K, C) oraz weryfikowano efektywność usuwania związków organicznych i biogenych ze stosowanego medium hodowlanego. E1 podzielono na dwie serie (S), różniące się testowanymi grupami taksonomicznymi mikroorganizmów. W serii pierwszej (E1S1) testowano mikroglony z gatunku *C. vulgaris*, w seria drugiej (E1S2) natomiast sinice z gatunku *A. platensis*. Każdą serię przeprowadzono w dwóch wariantach (W). Kryterium wyodrębnienia wariantów był rodzaj ścieków stosowanych do przygotowania medium hodowlanego. W wariacie pierwszym (E1S1W1) stosowano modelowe, syntetyczne ścieki bytowe (Hezne i in. 1987), w wariacie drugim (E1S1W2) natomiast ścieki bytowe pochodzące ze zbiornika bezodpływowego dla domu jednorodzinnego. Wytworzona biomasa mikroglonów *C. vulgaris* i sinic *A. platensis* była następnie wykorzystywana w kolejnym etapie badań.

W etapie drugim (E2) analizowano możliwość zastosowania biomasy mikroglonów oraz sinic do użyznienia testowanych podłoży hodowlanych, w tym symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych. Badania podzielono na dwie serie (S) w zależności od zastosowanej biomasy. W serii I (E2S1) wykorzystano mikroglony *C. vulgaris*, natomiast w serii II (E2S2) sinice *A. platensis*. Następnie w każdej serii wyodrębniono warianty (W), których kryterium wyodrębnienia był rodzaj stosowanego podłoża, w tym symulantów regolitów. W E2S1 wyodrębniono następujące warianty (W):

- E2S1W1 - próba kontrolna, podłoże organiczne, które stanowiła gleba (Lentsepotgrond) wyprodukowana przez firmę Horticoop U.A.,
- E2S1W2 - symulant regolitu księżycowego oznaczony katalogowo: JSC-1A, wykorzystywany już wcześniej jako podłoże do upraw (Wamelink i in., 2014, 2019), nazywany w nomenklaturze badań kosmicznych symulantem regolitu z recyklingu,
- E2S1W3 - symulant regolitu księżycowego oznaczonych katalogowo JSC-1A, stworzony przez NASA Johnson Space Center,
- E2S1W4 - symulant regolitu księżycowego oznaczony katalogowo JSC-1A, po separacji magnetycznej związków ferromagnetycznych,

- E2S1W5 - symulant regolitu księżycowego wyprodukowany w Polsce oznaczony katalogowo AGK-2010, pozyskany z Centrum Badań Kosmicznych Polskiej Akademii Nauk w Warszawie,
- E2S1W6 - symulant regolitu marsjańskiego (Mojave Mars Simulant) oznaczony katalogowo MMS-1 opracowany w Jet Propulsion Laboratory NASA oraz University of California,
- E2S1W7 - symulant regolitu marsjańskiego (Mars Global Simulant) oznaczony katalogowo MGS-1, opracowany w Centrum Kosmicznym University of Central Florida,

W E2S2 wyodrębniono:

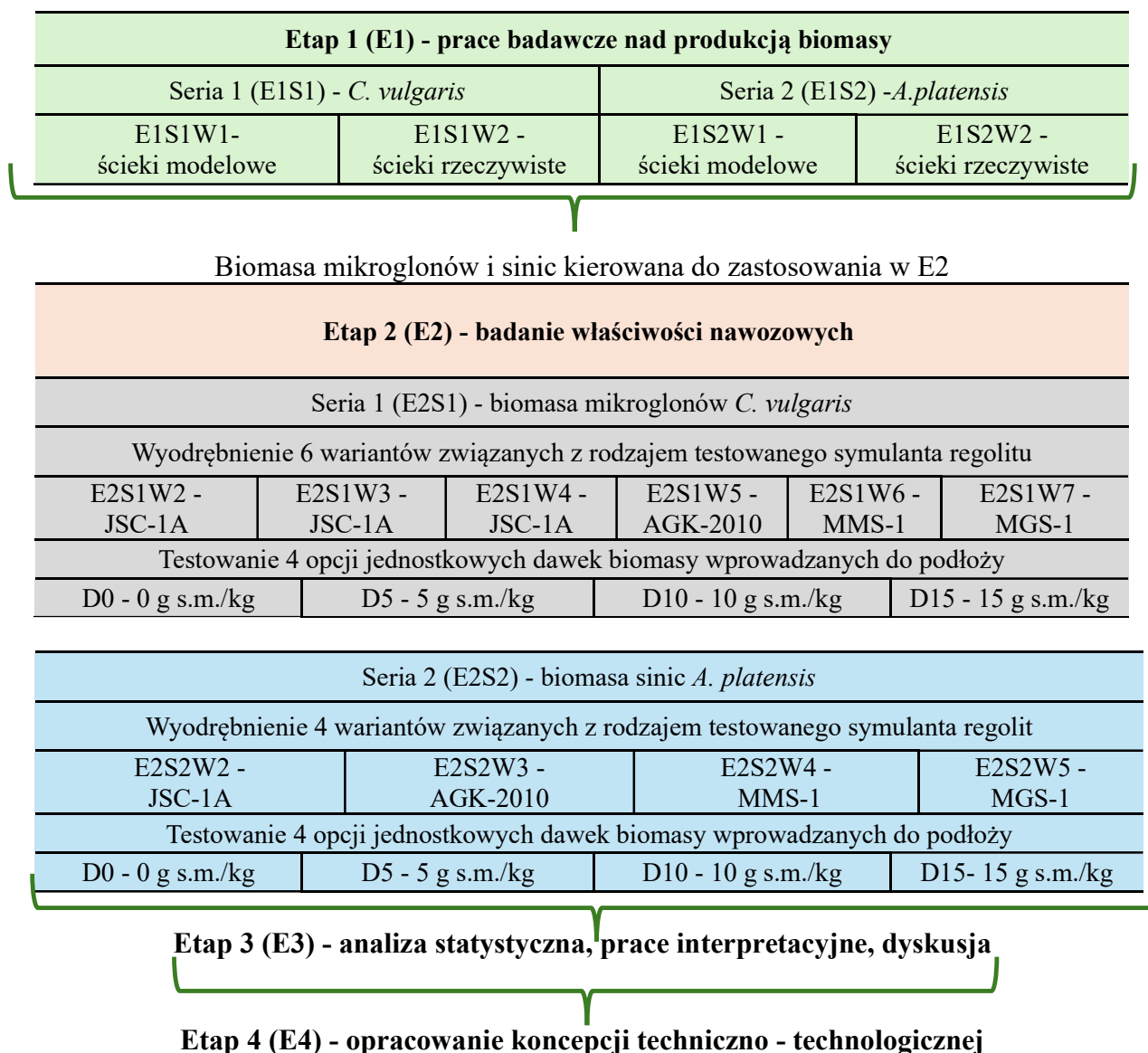
- E2S2W1 - próba kontrolna, podłoże organiczne, które stanowiła gleba (Lentsepotgrond) wyprodukowana przez firmę Horticoop U.A.,
- E2S2W2 - symulant regolitu księżycowego oznaczony katalogowo: JSC-1A, wykorzystywany już wcześniej jako podłoże do upraw (Wamelink i in., 2014, 2019), nazywany w nomenklaturze badań kosmicznych symulantem regolitu z recyklingu,
- E2S2W3 - symulant regolitu księżycowego wyprodukowany w Polsce oznaczony katalogowo AGK-2010, pozyskany z Centrum Badań Kosmicznych Polskiej Akademii Nauk w Warszawie,
- E2S2W4 - symulant regolitu marsjańskiego (Mojave Mars Simulant) oznaczony katalogowo MMS-1 opracowany w Jet Propulsion Laboratory NASA oraz University of California,
- E2S2W5 - symulant regolitu marsjańskiego (Mars Global Simulant) oznaczony katalogowo MGS-1, opracowany w University of Central Florida,

W E2S2 nie przeprowadzono wariantów z użyciem czystego symulanta regolitu księżycowego JSC-1A ze względu na jego ograniczoną dostępność (E2S1W3). JSC-1A był jednym z pierwszych symulantów regolitu księżycowego, opracowanym przez NASA w latach pięćdziesiątych XX wieku. Obecnie JSC-1A nie jest już dostępny poza ośrodkami NASA. W S2E2 wykorzystano jedynie symulant regolitu księżycowego JSC-1A, który był wcześniej kilkakrotnie wykorzystany w badaniach uprawowych (E2S1W2).

W każdym z wariantów wyodrębniono cztery dawki nawożenia, które różniły się stężeniem biomasy mikroglonów lub sinic wprowadzanej do testowanych podłoży doświadczalnych. Stosowano kolejno: D0 - 0 g suchej masy/kg podłoża, D5 - 5 g suchej masy/kg podłoża, D10 - 10 g suchej masy/kg podłoża, D15 - 15 g suchej masy/kg podłoża.

W trzecim etapie (E3) przeprowadzono analizę uzyskanych wyników prac eksperymentalnych. Przeprowadzono porównawczą analizę statystyczną monitorowanych zmiennych oraz przeprowadzono dyskusję uzyskanych wyników poprzez ich porównanie z

dotychczas opublikowanymi badaniami. Etap czwarty (E4) obejmował próbę opracowania koncepcji techniczno-technologicznej systemu produkcji biomasy mikroglonów i sinic przeznaczonej na cele nawozowe dla symulantów regolitów pozaziemskich. Schemat prowadzonych prac eksperymentalnych, interpretacyjnych i koncepcyjnych przedstawiono na rysunku 3.



Rysunek 3 Schemat organizacyjny realizowanych prac eksperymentalnych, interpretacyjnych i koncepcyjnych.

4.2. Materiały

4.2.1. Mikroglony i sinice

Eksperyment dotyczący uprawy mikroglonów i sinic odbywał się w laboratorium Centrum Akwakultury i Inżynierii Ekologicznej, Wydziału Geoinżynierii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (UWM). Biomasa mikroglonów z gatunku *C. vulgaris* i

sinic z gatunku *A. platensis* pochodziła hodowli własnej prowadzonej w instalacjach fotobioreaktorów (FBR) Katedry Inżynierii Środowiska UWM. Pierwotnie inokulaty biomasy *C. vulgaris* (UTEX 2714) oraz *A. platensis* (UTEX 3086) były pozyskane z Culture Collection of Algae, University of Texas, Austin, TX, USA i hodowane w laboratoryjnych fotobioreaktorach (FBR) z wykorzystaniem medium syntetycznego. Następnie wstępnie namnożoną biomasę drobnoustrojów wprowadzano do FBR zasilanych w zależności od wariantu modelowymi (E1W1) lub rzeczywistymi (E1W2) ściekami bytowymi. Początkowe stężenie biomasy w eksperymentalnych FBR wynosiło około 250 mg suchej masy organicznej/dm³.

4.2.2. Syntetyczne i rzeczywiste ścieki bytowe

Syntetyczne ścieki socjalne zostały przygotowane zgodnie z procedurą opisaną przez (Henze i in., 1987), w oparciu o model ASM1. Do przygotowania 1 litra roztworu zastosowano następujące związki chemiczne w podanych ilościach: glukoza - 160 mg, aceton - 160 mg, mocznik - 120 mg, chlorek amonu (NH₄Cl) - 50 mg, fosforan potasu (KH₂PO₄) - 28 mg, siarczan magnezu siedmiowodny (MgSO₄·7H₂O) - 7 mg, chlorek wapnia dwuwodny (CaCl₂·2H₂O) - 4 mg oraz wodorowęglan sodu (NaHCO₃) - 90 mg. Skład ten zapewnia odpowiednie proporcje łatwo i trudno biodegradowalnych związków węgla, azotu oraz fosforu, umożliwiając odtworzenie warunków typowych dla rzeczywistych ścieków bytowo-gospodarczych w warunkach laboratoryjnych. Rzeczywiste ścieki bytowe pozyskiwano natomiast ze zbiorników bezodpływowych (szamb) zlokalizowanych przy budynkach jednorodzinnych, stanowiących część zabudowy mieszkaniowej o charakterze indywidualnym. Ścieki rzeczywiste po wprowadzeniu do FBR filtrowano przez sącze Whatman GF/A 1,2 μm w celu usunięcia zawiesin. Podstawowe wartości wskaźników zanieczyszczeń w ściekach stosowanych podczas hodowli *C. vulgaris* i *A. platensis* przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5 Charakterystyka ścieków wykorzystywanych do zasilania FBR podczas hodowli *C. vulgaris* i *A. platensis* w pierwszym etapie prac eksperymentalnych.

Wskaźnik	Jednostka	Ścieki syntetyczne	Ścieki rzeczywiste
ChZT	mg O ₂ /dm ³	550±30	906±150
BZT ₅ (BOD ₅)	mg O ₂ /dm ³	282±20	452±100
Azot ogólny	mg N/dm ³	55±5	91±25
Azot amonowy	mg N/dm ³	13±2	57±15
Fosfor całkowity	mg P/dm ³	6,5±0,5	12±3
Ortofosforany	mg P/dm ³	6,1±0,5	9±2
Zawiesina ogólna	mg/dm ³	0±0	21±3
pH	-	7,1±0,2	6,8±0,3

4.2.3. Roślina wskaźnikowa

Nasiona rośliny wskaźnikowej, tj. sałaty masłowej (*Lactuca sativa* L., Baby Lettuce), wykorzystane w eksperymencie pozyskano z firmy (Tuinplus). Sałata masłowa jest rośliną łatwą do uprawy zarówno w warunkach laboratoryjnych. Łatwo przystosowuje się do różnych rodzajów gleby, temperatury oraz wilgotności, co czyni ją uniwersalną rośliną eksperymentalną. Jej uprawa w różnych systemach (np. hydroponika, aeroponika, gleba, regolity) pozwala na testowanie różnych metod hodowli i badanie wpływu zmiennych czynników na rozwój roślin.

4.2.4. Podłoże kontrolne oraz symulanty regolitów marsjańskich i księżycowych

Podłoże kontrolne (Lentsepotgrond) zostało wyprodukowane przez firmę Horticoop U.A. (Horticoop). Lentsepotgrond to podłoże organiczne, które jest mieszanką różnych materiałów organicznych, takich jak torf, wermikulit, perlit, a także składniki mineralne. Torf stanowi główną część składu, ale są w nim także dodatki poprawiające strukturę, takie jak wermikulit czy perlit, które zwiększają przepuszczalność wody i powietrza. W zależności od specyficznych potrzeb uprawy, skład podłoża może być modyfikowany, by uzyskać optymalne warunki wzrostu roślin. Charakterystykę tego podłoża stosowanego w E2S1W1 oraz E2S2W1 przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6 Charakterystyka podłoża kontrolnego stosowanego w drugim etapie prac eksperymentalnych.

Składnik/parametr	Jednostka	Wartość
Hort clay	kg/m ³	50,0
Torf szwedzki	%	20
Torf bałtycki	%	40
Torf ogrodowy	%	40
Dolokal	kg/m ³	4,7
Mieszanka Pg (mikroelementy)	kg/m ³	1,0
N _{całk.}	g/kg	12,4±6,3
P _{całk.}	g/kg	2,2±1,7
K _{całk.}	g/kg	18,8±12,1
pH	-	5,5-6,0
Wilgotność	%	40-60
Porowatość	%	45-50

Symulant regolitu księżycowego JSC-1A został pozyskany z ORBITEC (obecnie Sierra Nevada Corporation), natomiast symulant regolitu księżycowego AGK-2010 pochodził z Centrum Badań Kosmicznych Polskiej Akademii Nauk w Warszawie (wykorzystany w ramach badań przeprowadzanych w projekcie SONATA BIS 10 (2020/38/E/ST8/00527) „Wydobycie regolitu na powierzchni Księżyca w warunkach obniżonej grawitacji”). Symulant regolitu marsjańskiego MMS-1 został pozyskany z (The Martian Garden) zaś MGS-1 z (Space Resource Technologies). Skład chemiczny wykorzystanych podczas eksperymentów symulantów regolitów pozaziemskich zgodnie z kartami specyfikacji i analizami własnymi przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7 . Charakterystyka chemiczna symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych stosowanych w pracach eksperymentalnych; E2S1W3 (Mckay i in., 1994) E2S1W6, E2S2W4 (The Martian Garden), E2S1W7, E2S2W5 (Space Resource Technologies)- wyprodukowany przed 06.2021r), E2S1W2, E2S2W2/E2S1W4/E2S1W5, E2S2W3 (analizy własne).

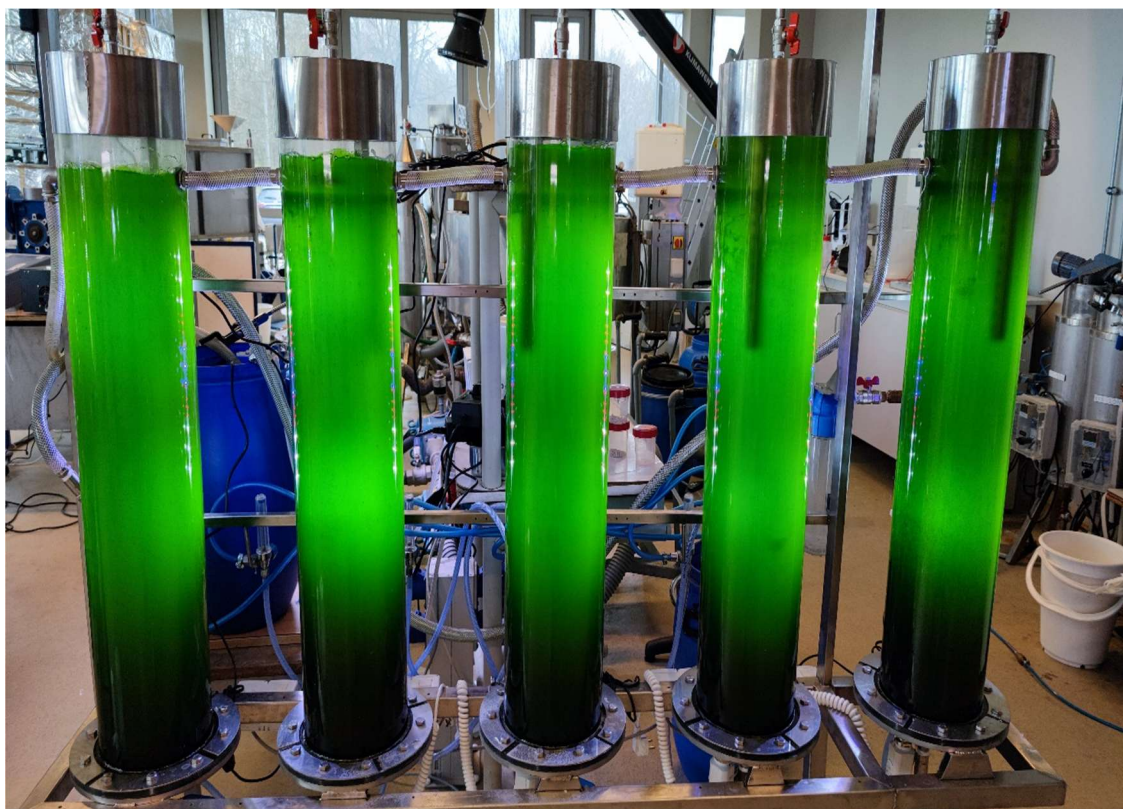
symbol	JSC-1A	JSC-1A	JSC-1A	AGK-2010	MMS-1	MGS-1
Wariant	E2S1W3	E2S1W2, E2S2W2	E2S1W4	E2S1W5, E2S2W3	E2S1W6, E2S2W4	E2S1W7, E2S2W5
Parametr	% wag.					
SiO ₂	47,71	47,59	48,55	41,86	49,40	45,2
TiO ₂	1,59	1,58	1,52	0,17	1,09	0,4
Al ₂ O ₃	15,02	13,05	15,0	0,97	17,10	14,9
Cr ₂ O ₃	0,04	0,03	0,04	-	0,05	0,2
Fe ₂ O ₃	3,44	3,40	2,3	0,86	10,87	18,7
NiO	-	-	-	-	-	0,2
FeO	7,35	7,17	4,15	-	-	-
MnO	0,18	0,19	0,15	0,02	0,17	0,1
MgO	9,01	9,00	8,89	0,087	6,08	7,6
CaO	10,42	10,44	10,25	0,32	10,45	10,0
Na ₂ O	2,70	2,0	2,55	0,24	3,28	-
K ₂ O	0,82	0,60	0,82	0,77	0,48	0,6
P ₂ O ₅	0,66	0,41	0,60	-	0,17	0,9
SO ₃	-	-	-	-	0,10	0,9
Cl	-	-	-	-	-	0,4
SrO	-	-	-	-	-	0,1
LOI	0,71	0,70	0,70	-	-	-
Łącznie	99,65	96,46	95,52	45,5	99,24	97,48

4.3. Stanowisko badawcze

4.3.1. Fotobioreaktory do produkcji biomasy mikroglonów i sinic

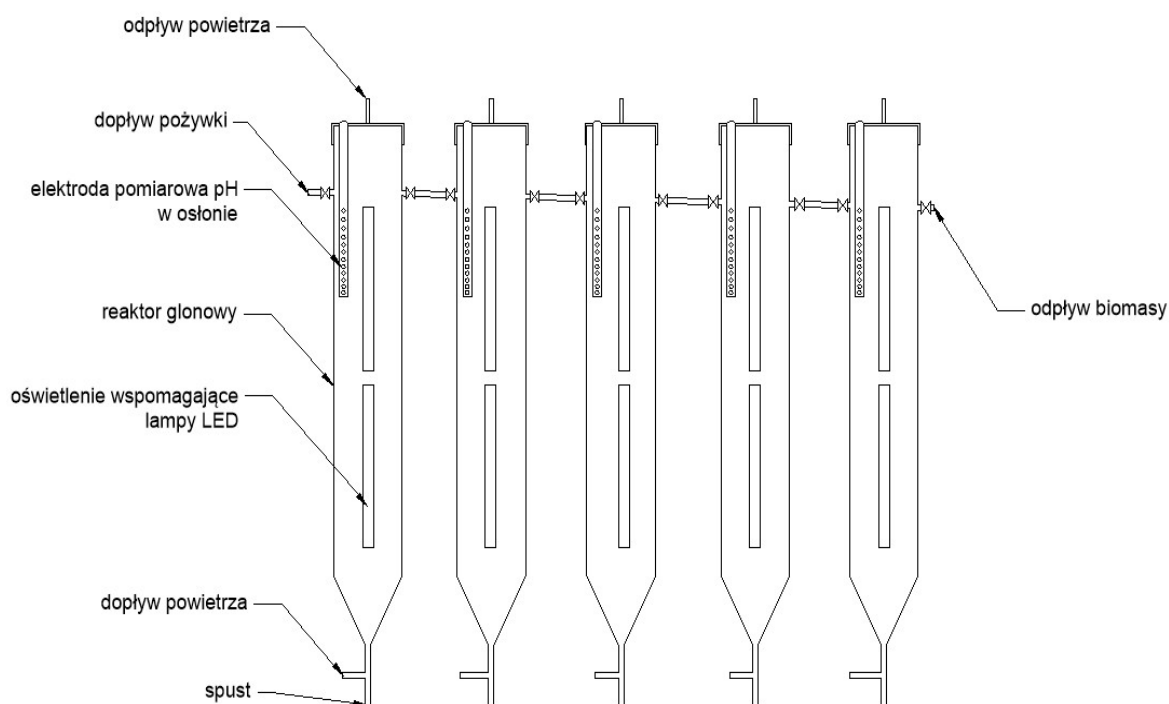
Hodowla *C. vulgaris* i *A. platensis* została przeprowadzona w fotobioreaktorach (FBR) o objętości 50 dm³ (InterSonic, Olsztyn, Poland), z zastosowaniem syntetycznych i rzeczywistych ścieków bytowych jako komponentu medium hodowlanego. W doświadczeniach stosowano kolumnowe FBR o orientacji pionowej (Rys. 4). Kolumny o średnicy 20 cm wykonano z przezroczystego szkła akrylowego. Wyposażono je gazowy zawór wlotowy zlokalizowany w dolnej części reaktora. W górnej części zamontowano pokrywę zintegrowaną z zaworami umożliwiającymi odpływ i recyrkulację gazów.

Mieszanie oraz zasilanie w CO₂ w FBR zapewnione było poprzez barbotaż wzbogaconym w 2% CO₂ (v/v) powietrzem, prowadzony z wydajnością 500 dm³/h (Rys. 5). FBR oświetlano za pomocą diod LED. Barwa światła, wyrażona jako temperatura barwowa, wynosiła 8000 K (dla diod niebieskich i czerwonych) oraz 6500 K (dla diod białych). Natężenie napromieniowania mieściło się w zakresie 500±50 μmol/(m²·s) w zakresie promieniowania fotosyntetycznie czynnego (PAR), mierzonego na wysokości wewnętrznej ściany fotobioreaktora przy użyciu foto/radiometru HD 2101.2 wraz z czujnikiem PAR (Delta OHM, Caselle di Selvazzano, Włochy).



Rysunek 4 FBR podczas hodowli *C. vulgaris* w pierwszym etapie badań.

Oświetlanie odbywało się w cyklu 16 h światła/8 h ciemności (16/8 h), co zapewniało odpowiedni czas na akumulację energii w procesie fotosyntezy. Temperatura w reaktorach była kontrolowana i dla *C. vulgaris* utrzymywała się w zakresie 20-25°C, dla *A. platensis* natomiast temperatura została utrzymana w zakresie 27-30°C.



Rysunek 5 Schemat systemu FBR stosowanych w pierwszym etapie badań.

4.3.2. Doświadczenie wazonowe

Eksperyment uprawowy przeprowadzono w atmosferze ziemskiej, przy grawitacji 9,81 m/s². Doświadczenia wazonowe realizowano w szklarniowych warunkach kontrolowanych w ramach stażu na Wageningen University & Research (Niderlandy) dofinansowanego z programu Regionalna Inicjatywa Doskonałości (RID) w latach 2019-2023, nr projektu 010/RID/2018/19 pod opieką dr inż. Wieger Wamelink. Podczas eksperymentu temperatura oraz wilgotność monitorowane były w sposób ciągły z częstotliwością co 5 minut. Temperatura wynosiła 20±2,5°C, a wilgotność kształtowała się na poziomie 70±5,5%. Zastosowano cykl dzień-noc, z zastosowaniem światła dziennego przez 16 godzin w ciągu doby. Stanowisko wyposażono w czujnik zmierzchowy, przetwornik wysyłający sygnał do systemu sterującego sztucznym oświetleniem. Zastosowano lampy emitujące oświetlenie z natężeniem strumienia świetlnego 80 µmol/m²·s (HS2000 Hortilux Schreder), które uruchamiały się automatycznie

gdy natężenie światła naturalnego spadało poniżej wartości 150 W/m^2 . W eksperymencie wykorzystano powietrze atmosferyczne bez dodatkowego wzbogacania CO_2 (400 ppm w 2023r. w De Bilt w Niderlandach). Każda z doniczek została ustawiona na stole roboczym w sposób randomowy (Rys. 6). Wymiary doniczek to 6 cm x 6 cm x 5,5 cm. Eksperymenty wazonowe prowadzono przez 30 dni.



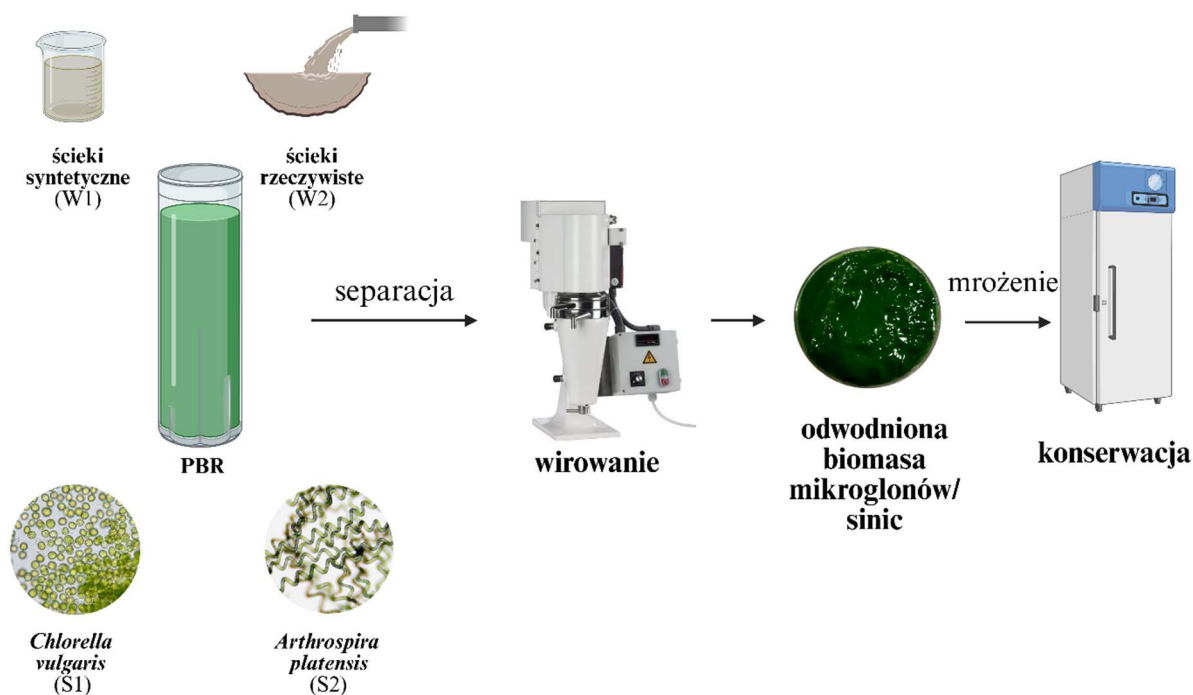
Rysunek 6 Stanowisko badawcze eksperymentów wazonowych z wykorzystaniem naturalnego (A) i sztucznego (B) oświetlenia uprawy.

4.4. Stosowane procedury eksperymentalne

4.4.1. Hodowla *C. vulgaris* i *A. platensis*

Pojedynczy hodowlany cykl eksperymentalny w E1 rozpoczynano od wprowadzenia do FBR stosowanych mediów hodowlanych. W W1 były to syntetyczne ścieki bytowe, natomiast w W2 ścieki rzeczywiste pochodzące ze zbiorników bezodpływowych gospodarstw domowych. Następnie uruchamiano systemy napowietrzania oraz wzbogacania stosowanej mieszanki powietrza w CO_2 i uruchamiano system oświetleniowy. W kolejnym kroku do medium hodowlanego wprowadzano inokulum testowanych mikroglonów i sinic w ilości zapewniającej początkowe stężenie na średnim poziomie $250 \text{ mg suchej masy organicznej/dm}^3$ (s.m.o./ dm^3). W ten sposób inicjowano cykl hodowlany, w trakcie którego z częstotliwością co 48 h monitorowano stężenie suchej masy (s.m.) w FBR oraz stężenia podstawowych wskaźników zanieczyszczeń. Cykl hodowlany uznawano za zakończony kiedy przez okres dwóch kolejnych

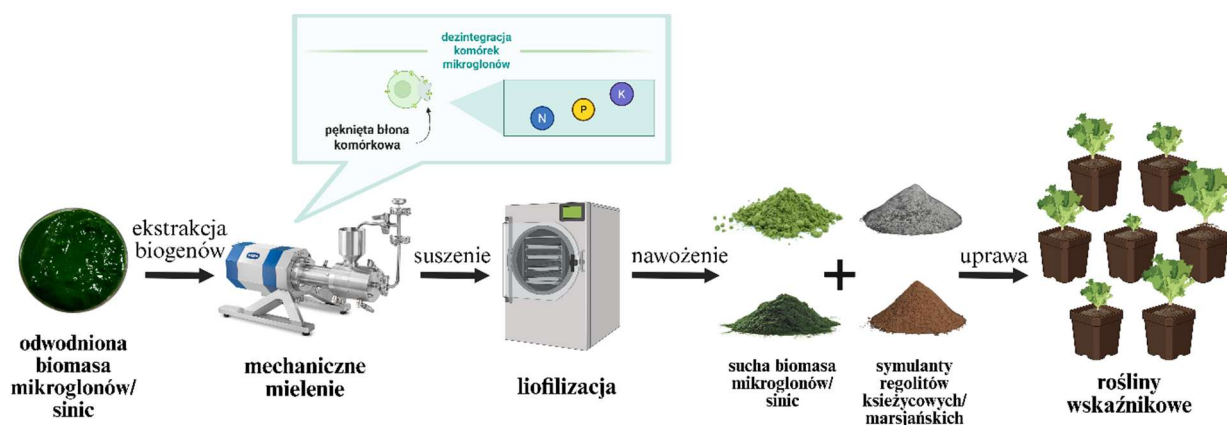
pomiarów wzrost średniego stężenia biomasy *C. vulgaris* i *A. platensis* był mniejszy niż 5%. Po zakończeniu cyklu hodowlanego biomasa mikroglonów i sinic była separowana z medium hodowlanego z wykorzystaniem wirówki model CEPA LE (Cepa, Niemcy) o pojemność rotora 0,25 dm³ i stosowanej prędkości wirowania w zakresie od 15000 do 30000 obr/min. Następnie odwodnioną do poziomu 20% suchej masy biomasy mrożono i stosowano w kolejnym etapie badań. Przebieg procesu przygotowania biomasy do nawożenia przedstawiono na rysunku 7.



Rysunek 7 Schemat procedury eksperymentalnej procesu produkcji i separacji biomasy *C. vulgaris* i *A. platensis*. Stworzone za pomocą BioRender.com

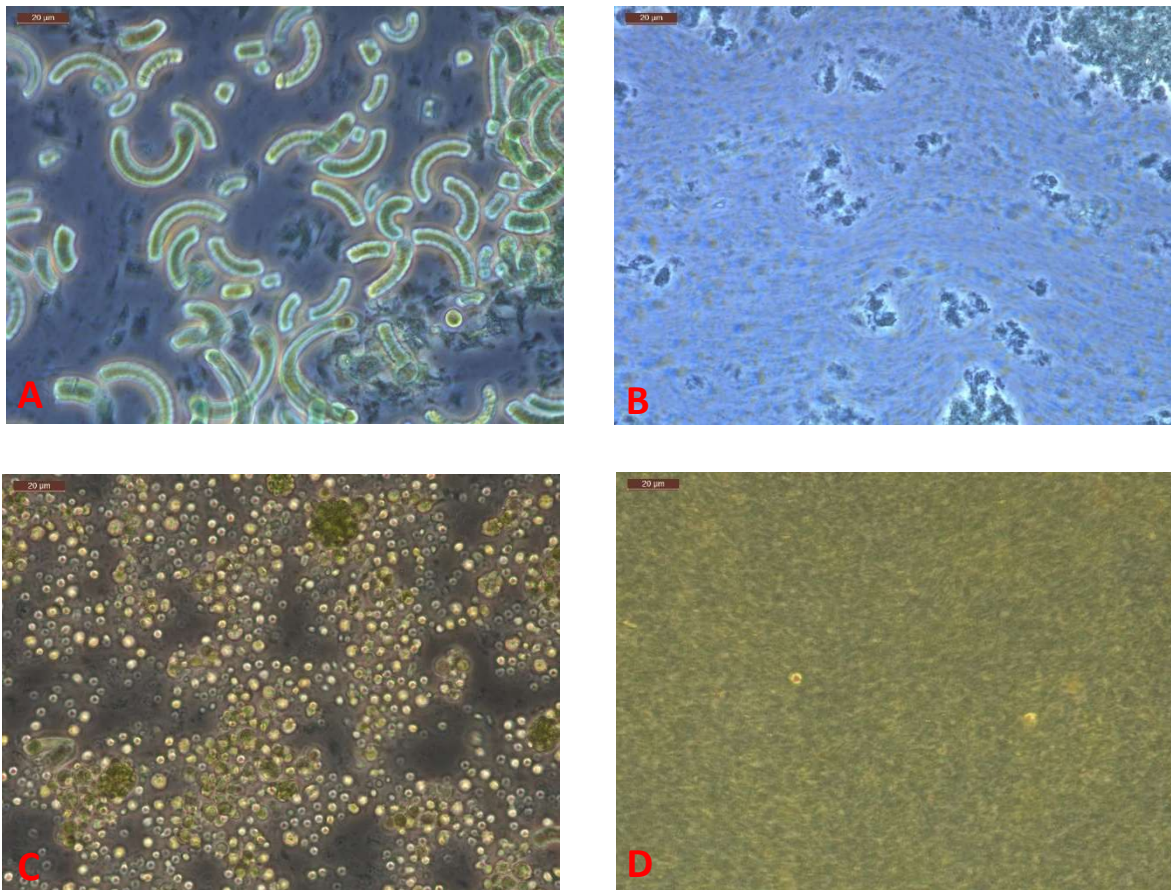
4.4.2. Przygotowanie biomasy *C. vulgaris* i *A. platensis* do nawożenia

Przed zastosowaniem mikroglonów i sinic jako bionawozu przeprowadzono proces dezintegracji komórek mikroorganizmów w celu uwolnienia zawartych w nich pierwiastków biogenych, które są następnie wykorzystywane w procesach wzrostu roślin. Schemat postępowania przedstawiona na rysunku 8.



Rysunek 8 Schemat procedury eksperymentalnej procesu produkcji i separacji biomasy *C. vulgaris* i *A. platensis*. Stworzone za pomocą BioRender.com

W procesie depolimeryzacji biomasy komórkowej zastosowano urządzenie DYNO®-MILL (Willy A. Bachofen AG Machinefabriek, Bazylea, Szwajcaria). Ten perełkowy młyn molekularny umożliwia wydajne rozdrobnienie komórek i destrukcję struktur komórkowych. Przed wprowadzeniem mikroglonów i sinic do obszaru dezintegracji biomasa zostawała uwodniona do poziomu 90% przy użyciu wody dejonizowanej (Milli-Q). Zgodnie z procedurą ten zabieg technologiczny ma zapewnić optymalne warunki dla ekstrakcji biogenów. Proces dezintegracji przeprowadzono przy prędkości obrotowej 6000 obr./min przez 15 minut. Na rysunku 9 przedstawiono efekty procesu dezintegracji biomasy *C. vulgaris*, oraz *A. platensis*.



Rysunek 9 Biomasa *C. vulgaris* przed procesem (A) i procesie dezintegracji (B) oraz biomasa *A. platensis* przed procesem (C) i po procesie dezintegracji (D) (powiększenie x40).

Po zakończeniu procesu zdeintegrowaną biomasę *C. vulgaris* i *A. platensis* przechowywano w zamrażarce w temperaturze -20°C , aby zapobiec degradacji ekstraktów i zachować ich właściwości do czasu wykorzystania w procesie nawożenia. Biomasa mikroorganizmów została następnie poddana liofilizacji, przy użyciu urządzenia Sublimator 2x3x3 (Zirbus Technologies, Niemcy). Czas trwania liofilizacji wynosił około 26 godzin. Po zakończeniu procesu, liofilizowaną biomasę przechowywano w lodówce w temperaturze 4°C do czasu jej dalszego wykorzystania. Na rysunku 10 przedstawiono zbiornik retencyjno - zwrotny biomasy mikroglonów i sinic poddawanej dezintegracji oraz biomasę po liofilizacji gotową do zastosowania w procesach nawożenia.



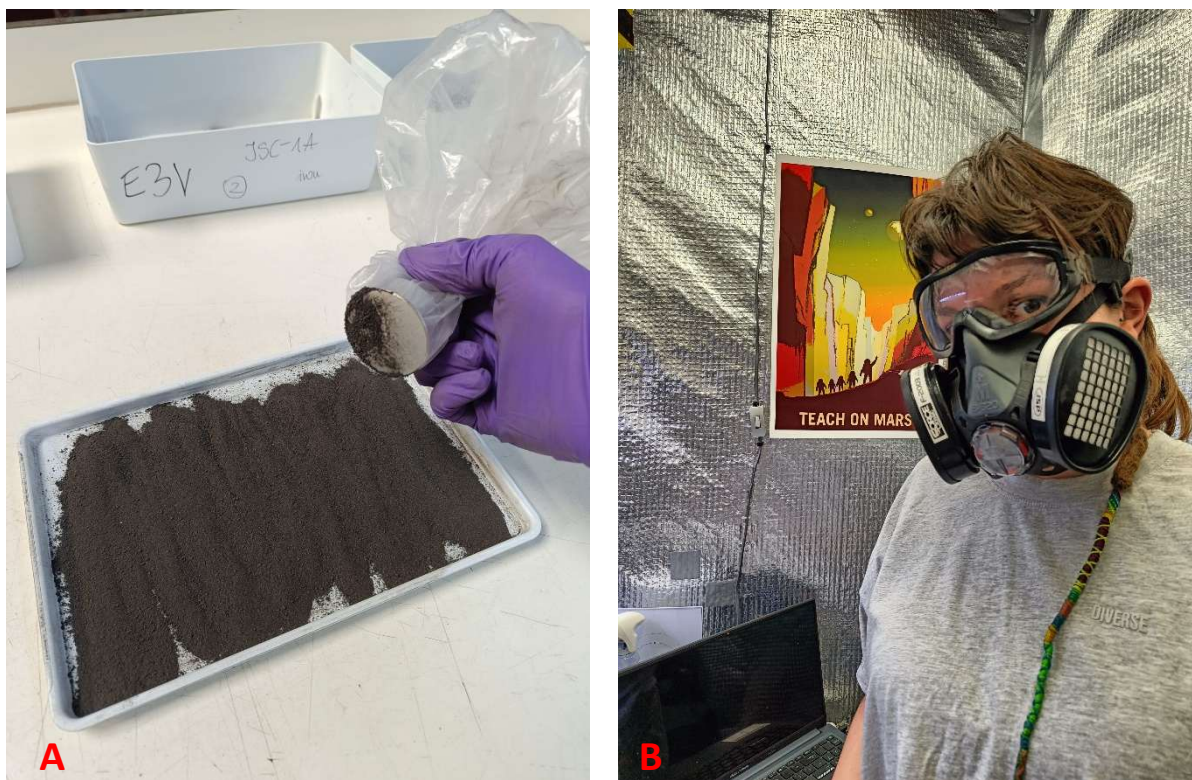
Rysunek 10 Zbiornik magazynowo-zwrotny biomasy poddawanej dezintegracji (A) i biomasa po liofilizacji gotowa do zastosowania w procesach nawożenia (B).

4.4.3. Przygotowanie symulantów regolitów

W przeprowadzonym eksperymencie wykorzystano symulant regolitu księżycowego JSC-1A, który poddano procesowi usuwania frakcji ferromagnetycznej (Rys. 11A). Proces separacji magnetycznej został zastosowany w celu obróbki symulanta regolitu, mającej na celu odzyskanie frakcji ferromagnetycznej, która potencjalnie może znaleźć zastosowanie w produkcji narzędzi oraz elementów konstrukcyjnych (Kobaka i in., 2023). Frakcja pozostała po separacji, stanowiąca część lekką, została poddana ocenie pod kątem jej przydatności jako substrat do uprawy roślin. W tym celu odważono około 1,5 kg symulanta, który następnie równomiernie rozprowadzono na plastikowej tacy. Separację przeprowadzono z użyciem magnesu neodymowego klasy N-45 (Nd-Fe-B), o wymiarach 45×15 mm, osiowej magnetyzacji oraz niklowanej powłoce (Ni-Cu-Ni). Magnes, charakteryzujący się siłą przyciągania wynoszącą 78 kg, był umieszczony na wysokości 2 cm nad powierzchnią symulanta regolitu i przemieszczany liniowo z prędkością ok. 5 cm/sekundę. Aby zwiększyć efektywność procesu, procedurę separacji powtórzono trzykrotnie. Po każdym cyklu przyciągnięte cząstki ferromagnetyczne były ręcznie usuwane z powierzchni magnesu i gromadzone w oddzielnym, sterylnym pojemniku. Pozostałe symulanty regolitów zostały

bezpośrednio wykorzystane do wzbogacania biomasą mikroglonów z gatunku *C. vulgrus* bądź sinic z gatunku *A. platensis* według założonych dawek. Podłoża nie zostały wysterylizowane.

Symulanty regolitów charakteryzują się silnie pylastą strukturą, wynikającą z obecności drobnoziarnistych frakcji. Ze względu na swoją strukturę granulometryczną, skład mineralogiczny oraz tendencję do unoszenia się w powietrzu materiały te stanowią potencjalne zagrożenie dla zdrowia. Z tego względu, podczas pracy z symulantami regolitów wskazane jest bezwzględne stosowanie odpowiednich środków ochrony indywidualnej (Rys. 11B).

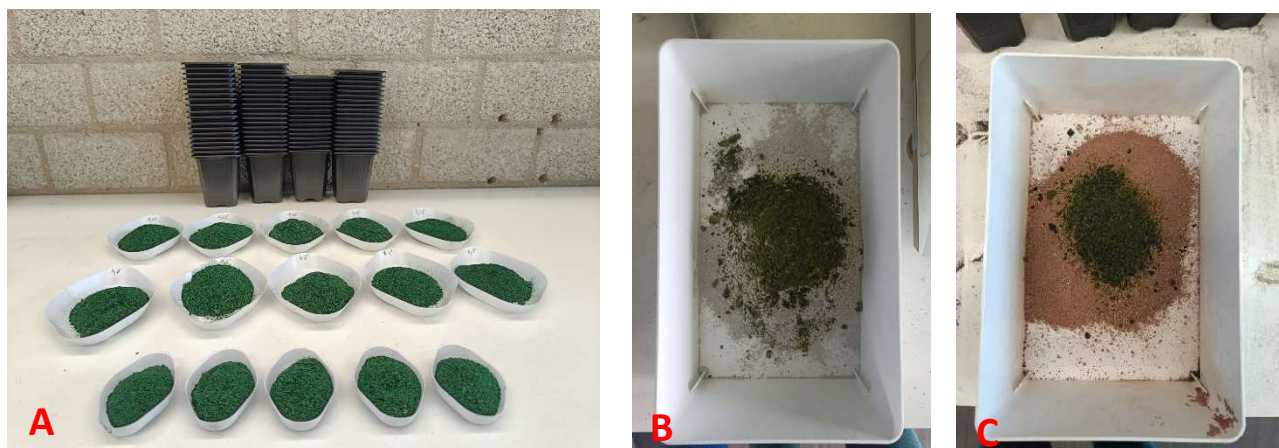


Rysunek 11 Proces magnetycznej separacji symulanta regolitu księżycowego JSC-1A (A) Wykorzystanie magnesu do oddzielenia frakcji ferromagnetycznej (B) zastosowane środki ochrony indywidualnej podczas obróbki symulanta- okulary ochronne i maska JSP FORCE8™ z filtrem Force® F-2000 P3 R.

4.4.4. Nawożenie podłoży

Zgodnie z pierwotnymi założeniami badań do wytypowanych i przygotowanych symulantów regolitu dodawano odpowiednią ilość biomasy mikroglonów lub sinic, które w zależności od testowanej opcji eksperymentalnej wynosiły mieściły się w zakresie od 0 g suchej masy/kg podłoża do 15 g suchej masy/kg podłoża (Rys. 12A). W procesie nawożenia 1 kg podłoża umieszczano w plastikowym pojemniku, a następnie mieszano uprzednio przygotowaną liofilizowaną odpowiednią ilością biomasy mikroglonów lub sinic (Rys. 12B,

12C). Całość mieszano ręcznie z wykorzystaniem metalowej łyżki przez około 120 sekund w celu zapewnienia odpowiedniego rozprowadzenia biomasy w podłożu oraz powstania jednorodnej próbki. Po wzbogaceniu podłoża biomasą przenoszono je do doniczek eksperymentalnych.



Rysunek 12 Biomasa przygotowana do nawożenia symulantów regolitów (A) oraz przykładowe mieszanki symulantów regolitu z biomasą mikroglonów (B) lub sinic (C).

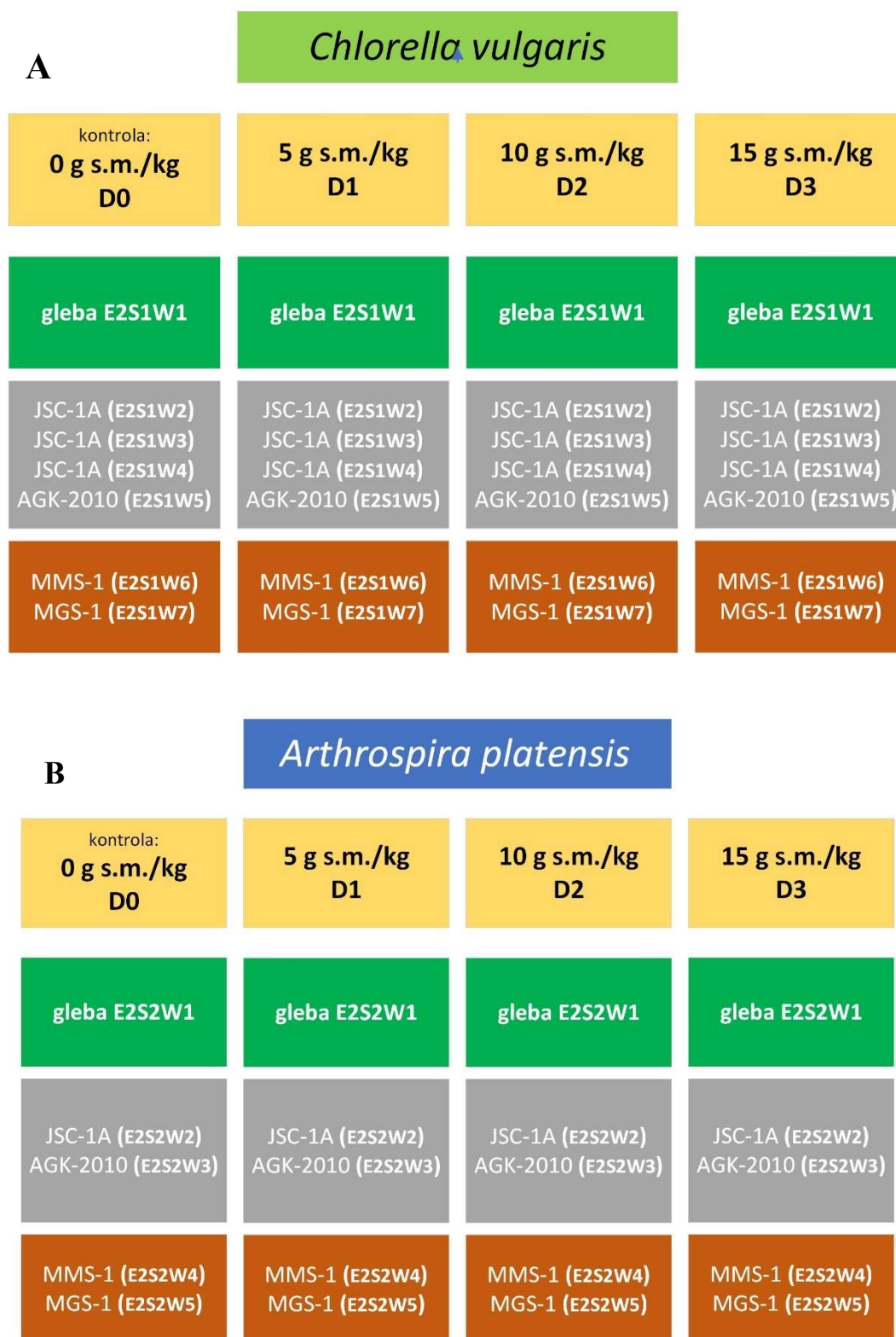
4.4.5. Uprawa rośliny wskaźnikowej

Uprawowe eksperymenty wazonowe przeprowadzono w E2. Efektywność nawożenia oceniano na podstawie wzrostu sałaty masłowej (*Lactuca sativa* L., Baby Lettuce Gotte Jaune d'Or), która pełniła rolę rośliny kontrolnej. Każdą opcję nawozową przeprowadzono w 5 powtórzeniach. W ramach realizacji eksperymentu przygotowano odpowiednie ilości symulantów regolitu, różnicując je pod względem stężenia suchej biomasy mikroglonów (Rys. 12A) oraz sinic (Rys. 12B). Doświadczenie nawożenia przeprowadzono w doniczkach. Na dno każdej z nich wyłożono arkusz ręcznika papierowego o wymiarach 7 cm x 7 cm celem zabezpieczenia wydostawania się podłoża z otworów. Pod każdą z doniczek umieszczono podstawkę. Do każdej wyprowadzano 70 g mieszaniny symulant regolitu zmieszanego z odpowiednią ilością biomasą mikroorganizmów lub sinic. Próby kontrolne zawierały po 30 g komercyjnie dostępnego podłoża organicznego. Różnica w zastosowanej masie wynikała z odmiennych właściwości objętościowych materiałów - wyższa zawartość materii organicznej w ziemi ogrodowej powoduje, że 30 g tego podłoża odpowiada objętościowo 70 g symulanta regolitu. W doświadczeniu wazonowym nasiona sałaty wysiano bezpośrednio do przygotowanego podłoża, po 3 sztuki do każdej doniczki. Nasiona nie były poddane sterylizacji. Początkową wodę dodawano stopniowo, do momentu osiągnięcia maksymalnej pojemności wodnej. Dla podłoża kontrolnego (E2S1W1, E2S2W1) było to 50 cm³, dla

(E2S1W2, E2S2W2) 40 cm³ a dla (E2S1W3, E2S1W4, E2S1W5, E2S1W6, E2S1W7 , E2S2W3, E2S2W4, E2S2W5) 20 cm³. Po upływie 7 dni najmniejsze kielki usunięto, pozostawiając jedną roślinę na doniczkę. Wszystkie doniczki rozmieszczono losowo na stole w szklarni, celem zminimalizowania wpływu lokalnych różnic mikroklimatycznych, takich jak nasłonecznienie czy temperatura, które mogłyby wpłynąć na wyniki doświadczenia. Uprawa trwała 30 dni.

Po zakończeniu eksperymentów cała biomasa sałaty masłowej została zebrana i poddana analizie (ważenie w celu określenia masy plonu). Rośliny rozdzielono na część nadziemną i podziemną. System korzeniowy oczyszczono z resztek podłoża poprzez płukanie wodą wodociągową w temperaturze pokojowej. Korzenie zanurzano w naczyniu z wodą na 1-2 minuty a następnie delikatnie usuwano resztki podłoża. Większe zanieczyszczenia usuwano przy użyciu miękkiego pędzelka. Po płukaniu usunięto nadmiar wody za pomocą bibuły laboratoryjnej. W przypadku obecności pozostałości podłoża proces płukania powtarzano. Części nadziemne roślin nie wymagały dodatkowego oczyszczania przed analizą.

W E2S1 wykorzystano łącznie 140 doniczek, co zostało obliczone na podstawie następującego wzoru: 1 roślina $\times$ 7 rodzajów substratów $\times$ 5 powtórzeń $\times$ 4 dawki = 140 doniczek. W S2S2 wykorzystano 100 doniczek, obliczonych według wzoru: 1 roślina $\times$ 5 rodzajów substratów $\times$ 5 powtórzeń $\times$ 4 dawki = 100 doniczek. Każda doniczka zawierała około 70 g podłoża, do eksperymentu użyto około 3,0 kg każdego substratu. Schemat organizacji eksperymentu w etapie pierwszym (E1S1) przedstawiono na rysunku 13A, zaś w drugim etapie (E2S2) został zaprezentowany na rysunku 13B.



Rysunek 13 Schemat organizacji eksperymentu przedstawiający wykorzystane rodzaje podłoży oraz zastosowane dawki bionawozu z biomasy *C. vulgaris* (A) i *A. platensis* (B).

5. Metody analityczne

5.1. Medium hodowlane

Zawartość związków organicznych wyrażonych ChZT, azotu ogólnego ($N_{og.}$) oraz fosforu ogólnego ($P_{og.}$) w hodowli mikroglonów i sinic oznaczono za pomocą spektrofotometru DR 5000 z mineralizatorem HT 200S (Hach-Lange, Berlin, Niemcy). Pomiary pH wykonywano miernikiem 1000 1 (VWR International, Radnor, PA, USA). Natężenie oświetlenia mierzono luksomierzem HI 97500 (Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA).

5.2. Biomasa mikroglonów i sinic

W trakcie badań prowadzono także analizy jakościowe biomasy mikroglonów i sinic. Zakres prowadzonych analiz obejmował oznaczenie zawartości suchej masy (s.m.), zawartości suchej masy organicznej (s.m.o.), zawartości suchej masy mineralnej (s.m.m.). Zawartość suchej masy, suchej masy organicznej i mineralnej określano metodą grawimetryczną zgodnie z normą PN-ISO 11465:2003 - "Oznaczanie zawartości suchej masy w próbkach gleb i materiałów roślinnych metodą grawimetryczną". Lotne substancje stałe oznaczano grawimetrycznie poprzez spalenie biomasy w temperaturze 550 °C (piec muflowy LAC L, Dąbrowica, Polska), a następnie ważenie popiołu (DanLab AX423, Białystok, Polska).

Po uzyskaniu odpowiedniej ilości biomasy w obydwóch gatunkach mikroglonów oznaczono skład pozwalający na określenie wartości nawozowej uzyskanej biomasy mikroglonów i sinic. Próbki zostały przebadane pod kątem zawartości podstawowych składników pokarmowych, takich jak azot, fosfor, potas i węgiel. Wyniki analizy oparte na materiale suszonym w temperaturze 70°C przez 24h. Zawartość $C_{całk.}$ określono przy wykorzystaniu analizatora cząstek Flash 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Zawartość azotu całkowitego ($N_{całk.}$) oraz fosforu całkowitego ($P_{całk.}$) określono przy użyciu analizatora przepływowego typu SFA-Nt/Pt (SEAL AQ300 Discrete Analyzer, Mequon, WI, USA). Próbki poddano mineralizacji mieszaniną H_2SO_4 , H_2O_2 i Se, bez mielenia koloidalnego. Zawartość potasu ($K_{całk.}$) oznaczono metodą spektrometrii emisyjnej z plazmą wzbudzaną indukcyjnie (ICP-AES) (Agilent 5900 SVDV ICP-OES, Santa Clara, CA, USA) po mineralizacji próbek mieszaniną HNO_3 i HCl (tzw. woda królewska, aqua regia).

5.3. Symulanty regolitów

Próbki symulantów regolitów zostały poddane analizie z wykorzystaniem rentgenowskiego dyfraktometru proszkowego X'Pert PRO MPD (PANalytical B.V., Niderlandy) przy użyciu metody Bragga-Brentano. Próbkę rejestrowano w zakresie $4-78^{\circ} 2\theta$, z krokiem $0,026^{\circ} 2\theta$, preparat proszkowy, prasowany z rotacją preparatu 1 obr./2s, promieniowanie $\text{CoK}\alpha$ filtrowane (filtr Fe) o parametrach prądowych 30mA i 40kV. Detekcja promieniowania - detektor liniowy PIXcel. Całkowity czas pomiaru próbki: 8 godz. Analizę wyników przeprowadzono przy użyciu oprogramowania X'Pert HighScore Plus (ver.2.2e). Do ważenia symulantów regolitów wykorzystano wagę analityczną (Kern ABS 220-4N+963-101, Germany) o dokładności 0,001 g, co umożliwiło precyzyjne określenie m.in. procentowego udziału usuniętych składników ferromagnetycznych.

5.4. Roślina wskaźnikowa

Efektywność wzrostu sałaty została wykonana poprzez analizę świeżej i suchej masy części nadziemnej i podziemnej za pomocą metody grawimetrycznej wg normy PN-ISO 11465:2003 - "Oznaczanie zawartości suchej masy w próbkach gleb i materiałów roślinnych metodą grawimetryczną". Świeża masa części nadziemnej jak i podziemnej roślin została natychmiast zważona po zbiorze i oczyszczeniu. Biomasa nie była trzymana w eksykatorze przed ani po procesie suszenia. Następnie materiał roślinny suszono w piecu przez 48 godzin w temperaturze 70°C . Po całkowitym wysuszeniu i schłodzeniu, biomasę nadziemną i podziemną zważono oddzielnie za pomocą wagi analitycznej (Kern ABS 220-4N+963-101, Germany) o dokładności 0,001 g, co umożliwiło precyzyjne określenie wielkości plonu. Uzyskane wyniki poddano analizom statystycznym w celu oceny istotności różnic między próbkami.

5.5. Metody statystyczne

Analiza statystyczna uzyskanych wyników została przeprowadzona w oparciu o pakiet STATISTICA 13.3 PL. Weryfikacja hipotezy dotyczącej rozkładu każdej badanej zmiennej została określona na podstawie testu W Shapiro - Wilka. W celu stwierdzenia istotności różnic między zmiennymi przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Sprawdzenia jednorodności wariancji w grupach dokonano z wykorzystaniem testu Levene'a. W celu określenia istotności różnic między analizowanymi zmiennymi test RIR Tukeya. W testach przyjęto poziom istotności $p \leq 0,05$. Uzyskane wyniki przedstawiono w formie średnich

wartości wraz z błędem standardowym $\pm$ SE. Błąd standardowy średniej został zastosowany w celu określenia stopnia niepewności oszacowania wartości średniej dla danej grupy. W przeciwieństwie do odchylenia standardowego, błąd standardowy odzwierciedla precyzję oszacowania średniej, a nie zmienność całej populacji.

6. Wyniki badań i dyskusja

6.1. ETAP 1

6.1.1. Efektywność przyrostu biomasy mikroglonów i sinic

W EIS1 prowadzono proces produkcji biomasy mikroglonów z gatunku *C. vulgaris*. W zależności od testowanego wariantu eksperymentalnego medium hodowlane stanowiły syntetyczne (W1) lub rzeczywiste ścieki bytowe (W2). Wybór medium związany był z faktem, iż są to zanieczyszczenia w sposób najwierniejszy odpowiadające powstającym na stacjach kosmicznych (Espinosa-Ortiz i in., 2023). W kontekście badań nad gospodarowaniem ściekami w zamkniętych systemach biologicznych, istotnym modelem porównawczym dla ścieków generowanych na ISS mogą być ścieki z przydomowych zbiorników bezodpływowych (szamb) (Verostko i in., 2004). W obu przypadkach jest to systemem pozbawiony klasycznej infrastruktury kanalizacyjnej, co implikuje konieczność lokalnego gromadzenia i przetwarzania ścieków w ograniczonej przestrzeni, w sposób zapewniający ich maksymalne zagospodarowanie i minimalizację emisji zanieczyszczeń (Boyce i in., 2023). Ścieki obecne zarówno w szambach, jak i w systemach pokładowych ISS charakteryzują się wysokim stopniem koncentracji zanieczyszczeń, zwłaszcza azotu amonowego, fosforanów oraz materii organicznej (Verostko i in., 2004). Dominującym źródłem ładunku zanieczyszczeń jest mocz i fekalia, a brak rozcieńczenia wodami deszczowymi dodatkowo zwiększa intensywność parametrów chemicznych i biologicznych tych ścieków (Verostko i in., 2004). Obecność związków organicznych o niskiej biodegradowalności, wysokie stężenia soli mineralnych (Janiak i in., 2021) oraz ograniczona obecność mikroorganizmów saprofitycznych (szczególnie w warunkach ISS) determinują konieczność stosowania zaawansowanych technologii oczyszczania, często opartych o procesy membranowe lub układy sorpcyjne (Boyce i in., 2023).

Obecnie na ISS wykorzystywane są następujące systemy oczyszczania ścieków i wody: Urine Processor Assembly (UPA), Water Processor Assembly (WPA) oraz Brine Processor Assembly (BPA). Systemy te są elementami zintegrowanego obiegu wody w ramach Environmental Control and Life Support System (ECLSS) i działają w oparciu o procesy fizykochemiczne, a nie biologiczne, co pozwala na niezawodne funkcjonowanie w warunkach mikrogravitacji i w pełni zamkniętym środowisku (Boyce i in., 2023).

UPA odpowiada za odzyskiwanie wody z moczu astronautów. Wykorzystuje on proces destylacji próżniowej w wirówce (VCD - Vacuum Distillation Assembly), która umożliwia oddzielenie pary wodnej od pozostałości ciekłych w warunkach niskiego ciśnienia. Cały proces odbywa się w warunkach beztlenowych i nie zachodzą w nim reakcje biologiczne - jest to

wyłącznie proces fizyczny, wykorzystujący różnice temperatur wrzenia (Boyce i in., 2023). Odzyskana woda trafia następnie do systemu WPA, który odpowiada za dalsze oczyszczanie i uzdatnianie wody. WPA wykorzystuje kombinację metod fizycznych i chemicznych, takich jak filtracja cząstek stałych, złoża węgla aktywnego i jonowymienne, a także reaktor utleniający (Catalytic Reactor), w którym następuje rozkład pozostałości organicznych w wysokiej temperaturze i przy obecności tlenu. Choć są to procesy tlenowe, to mają one charakter chemiczny, a nie biologiczny, i nie wykorzystują mikroorganizmów.

Pozostałością po pracy UPA jest silnie zagęszczony roztwór nazywany solanką (brine), który zawiera m.in. sole mineralne i mocznik. Do jego dalszego przetworzenia wykorzystywany jest system BPA. Umożliwia on dodatkowy odzysk wody z solanki poprzez proces odparowania i kondensacji, również w warunkach beztlenowych i bez udziału mikroorganizmów. Dzięki BPA możliwe jest zwiększenie całkowitej efektywności odzysku wody na ISS do ponad 98%.

Warto podkreślić, że chociaż wspomniane systemy są bardzo wydajne i dobrze przystosowane do warunków mikrogravitacji, to nie bazują one na procesach biologicznych, takich jak osad czynny, które powszechnie stosuje się w oczyszczalniach ścieków na Ziemi. Mimo że niektóre przyszłościowe koncepcje, takie jak bioreaktory membranowe (MABR - Membrane-Aerated Biofilm Reactor), nawiązują do biologicznych procesów tlenowych, to obecnie są one dopiero testowane w warunkach naziemnych i nie zostały jeszcze wdrożone na ISS (Richardson i in., 2013). Jednym z potencjalnych powodów jest to, że technologia wymaga dużej objętości reaktora, co może kolidować z ograniczoną przestrzenią. Jednak wraz ze wzrostem ilości generowanych ścieków w przewidywalnej przyszłości na stacjach kosmicznych, technologie oczyszczania biologicznego wykazują duży potencjał.

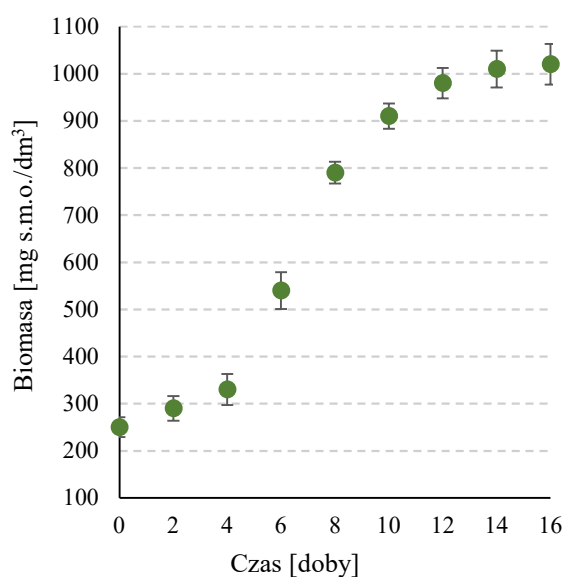
Biologiczne technologie beztlenowe mogą być alternatywnym wyborem, biorąc pod uwagę wysokie stężenie zanieczyszczeń w ściekach (Zhan i in., 2022a). Chińscy naukowcy badali technologie łączenia beztlenowych i tlenowych bioreaktorów membranowych w celu oczyszczania mieszanych ścieków w naziemnym badaniu CELSS przez 180 dni (Tang i in., 2021). Wykazano również, że technologie membranowe biologicznych reaktorów z węglem aktywnym spełniają oczekiwania dla recyklingu wody w biologicznych systemach podtrzymywania życia w „Lunar Palace 1” przez 370 dni (Zhao i in., 2022).

Analogiczne założenia przedstawiono w pracy, gdzie wykorzystano ścieki syntetyczne jako imitacja odpadów powstających na ISS. Badania przeprowadzone przez (Shrestha i in., 2023) koncentrowały się na opracowaniu składu syntetycznych ścieków, które odzwierciedlają charakterystykę odpadów generowanych podczas długoterminowych misji kosmicznych. W ich

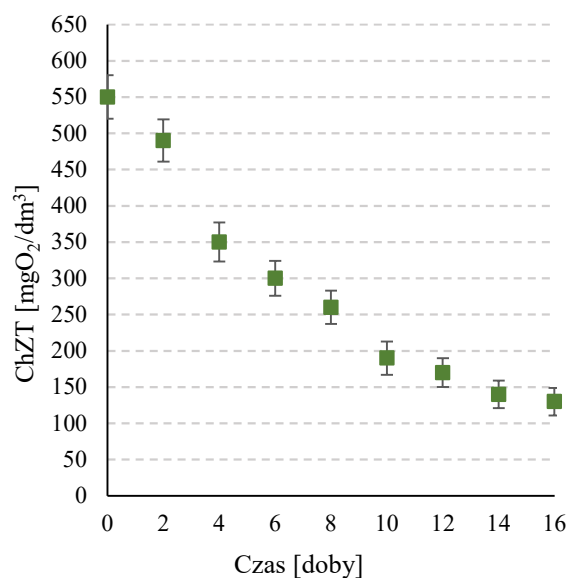
skład wchodzi m.in. mocznik, skrobia, glukoza, olej roślinny oraz jedzenie dla psów oraz ich odchody (Shrestha i in., 2023), co pozwala na uzyskanie realistycznego stosunku C:N:P. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że w warunkach beztlenowych możliwe jest usunięcie około 53% rozpuszczalnego chemicznego zapotrzebowania na tlen (ChZT) oraz ponad 30% całkowitego węgla organicznego ($C_{\text{całk.}}$) w ciągu 21 dni fermentacji metanowej (Shrestha i in., 2023).

W badaniach własnych testowano alternatywne rozwiązanie oparte na wykorzystaniu biologicznych metod biodegradacji i usuwania zanieczyszczeń opartych na wykorzystaniu biomasy mikroglonów i sinic. Zastosowanie technologii opartych na drobnoustrojach autotroficznych wydaje się być uzasadnione i konkurencyjne w stosunku do metod wykorzystujących biomasę tlenowych i beztlenowych bakterii (Zhan i in., 2022b). Bowiem prócz biodegradacji i usunięcia zanieczyszczeń zawartych w ściekach istnieje dodatkowo znaczny potencjał związany z biosekwestracją CO_2 oraz produkcją O_2 (Zhan i in., 2022b). Ma to istotne znaczenie w kontekście warunków funkcjonowania na ISS.

W E1S1W1 obserwowana średnia koncentracja biomasy mikroglonów na zakończenie procesu namnażania wynosiła 1020 ± 43 mg s.m.o./dm³ (Rys. 15). Szybkość przyrostu biomasy *C. vulgaris* w fazie wykładniczego wzrostu kształtowała się na poziomie $162 \pm 6,8$ mg s.m.o./dm³·d. Stężenie związków organicznych charakteryzowanych wskaźnikiem ChZT kształtowało się na poziomie 130 ± 19 mgO₂/dm³, co było efektem $76,4 \pm 3,5\%$ sprawności usuwania tego wskaźnika zanieczyszczeń (Rys. 14). W badaniu przeprowadzonym przez (Cai i in., 2019) wykorzystano odpływ pochodzący z laboratoryjnego reaktora sekwencyjnego (SBR), przetwarzającego syntetyczne ścieki komunalne. Reaktor został zaprojektowany z zastosowaniem selektywnego ciśnienia i hydrodynamicznej siły ścinającej w celu formowania granulek mikroglonów. Końcowe stężenie biomasy mikroglonów (dominującym rodzajem mikroglonów był szczep *Leptolyngbya*, stanowiący około 68% biomasy) wynosiło około 2000 mg s.m.o./dm³. Wysoka stabilność granul strukturalnych sprzyjała efektywnym procesom oczyszczania, czego rezultatem była efektywność usuwania rozpuszczonego węgla organicznego wynosząca średnio 94%. Podobne rezultaty osiągnięto w badaniach (Ge i in., 2013) dotyczącym wpływu różnych długości fal i intensywności diod elektroluminescencyjnych na efektywność oczyszczania ścieków syntetycznych przez mikroglony z gatunku *C. vulgaris*. Osiągnięto także wysoki poziom sprawności usuwania zanieczyszczeń wyrażonych wskaźnikiem ChZT wynoszący $82.12 \pm 11.28\%$. Była to efektywność zbliżona do obserwowanej w badaniach własnych.

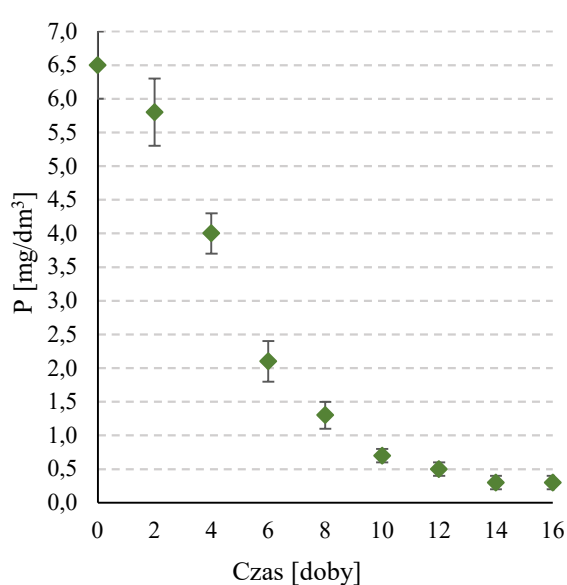


Rysunek 15 Zmiany stężenia biomasy *C. vulgaris* w ciągu cyklu hodowlanego (E1S1W1).

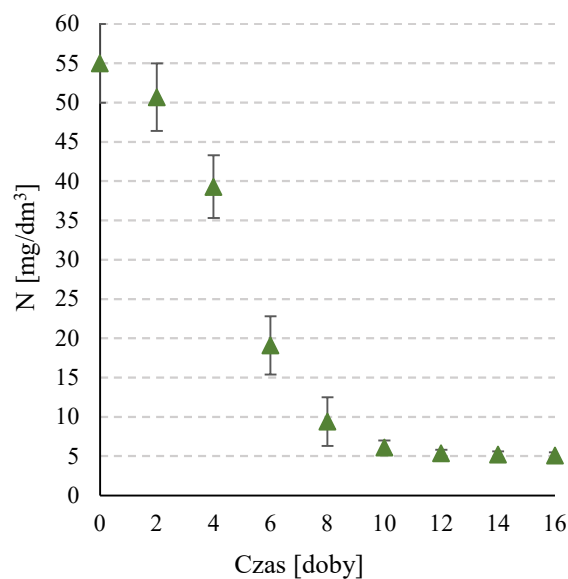


Rysunek 14 Zmiany stężenia ChZT w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W1).

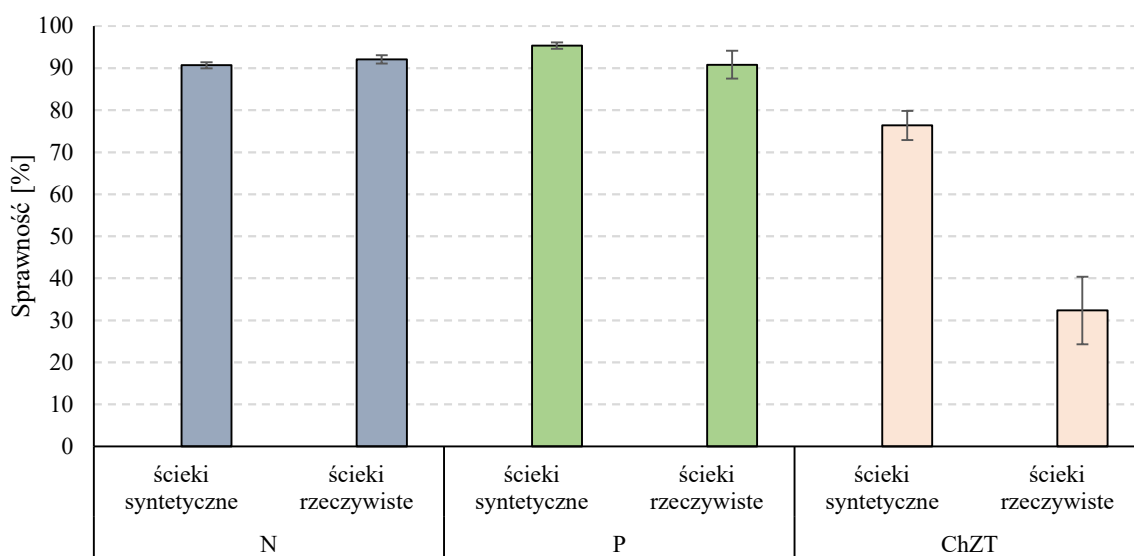
W ciągu pierwszych 12 dni hodowli wzrastająca populacja *C. vulgaris* wydajnie wykorzystwała zawarte w medium hodowlanym związki azotu i fosforu (Rys. 16, Rys. 17). Stężenia tych substancji pokarmowych w FBR na zakończenie hodowli kształtowały się na poziomie $5,1 \pm 0,40$ mg N_{og}/dm³ oraz $0,3 \pm 0,1$ mg P_{og}/dm³ (Rys. 16, Rys. 17). Także w pracy (Ge i in., 2013) osiągnięto wysoki stopień wbudowania związków biogennych w biomasę mikroorganizmów *C. vulgaris* (FACHB-31). Efektywność usuwania N_{og} kształtowała się na poziomie $76,04 \pm 8,39\%$ zaś P_{og} $57,88 \pm 7,43\%$. Autorzy pracy (Cai i in., 2019) osiągnęli podobne rezultaty. Związki fosforu zostały oczyszczone na poziomie 68,1%. Z kolei związki azotu zostały usunięte z efektywnością 48,2%. Były to sprawności istotnie niższe od obserwowanych w badaniach własnych, które wynosiły kolejno 90% (N) i 95% (P) (Rys. 18).



Rysunek 17 Zmiany stężenia fosforu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W1).



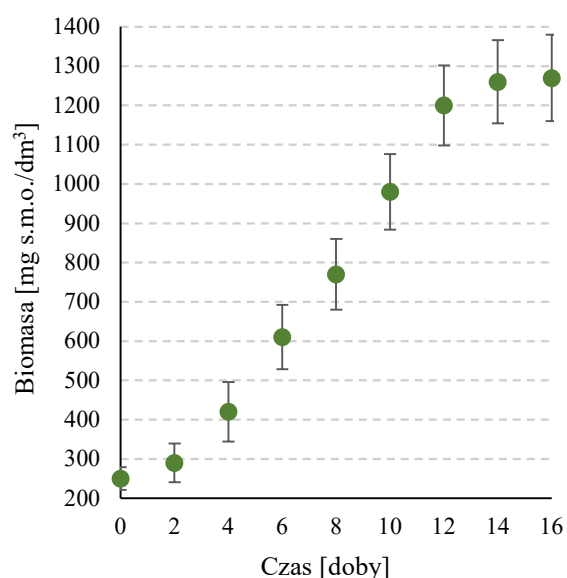
Rysunek 16 Zmiany stężenia azotu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W1).



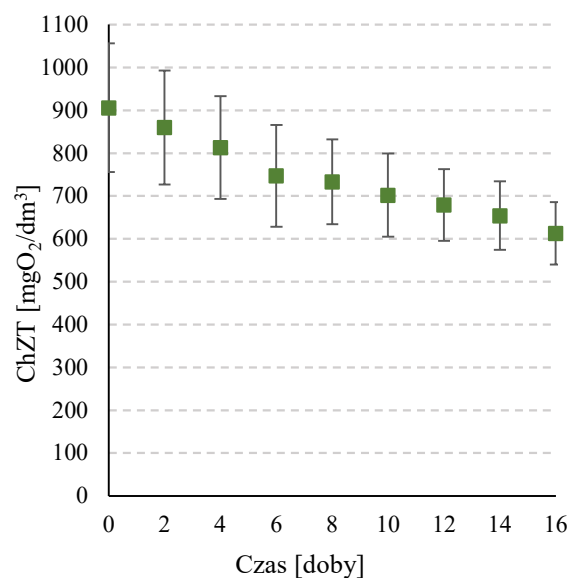
Rysunek 18 Sprawność usuwania monitorowanych wskaźników zanieczyszczeń w zależności od rodzaju stosowanych ścieków bytowych podczas hodowli *C. vulgaris*.

W E1S1W2 medium FBR stanowiły filtrowane rzeczywiste ścieki bytowe pochodzące ze zbiornika bezodpływowego. Stwierdzono, iż to podłoże hodowlane pozwoliło istotnie ($p \leq 0,05$) na przyspieszenie wydajności rozwoju populacji *C. vulgaris*, podniesienie końcowego stężenia mikrogłonów oraz zwiększenie szybkość produkcji biomasy (Rys. 15). Końcowa zawartość suchej masy organicznej w FBR wynosiła 1270 ± 110 mg s.m.o./dm³, przy

obserwowanej szybkości wzrostu mikroglonów w fazie wykładniczej wynoszącej $182 \pm 15,8$ mg s.m.o./dm³·d (Rys. 15). W badaniach (Tran i in., 2021) wykorzystano szczep mikroglonów *Chlorella variabilis* TH03 do usunięcia zanieczyszczeń ze ścieków bytowych. Maksymalne stężenie biomasy wynosiło 1720 mg s.m.o./dm³. Dobowy przyrost w tym przypadku biomasy kształtował się na poziomie 340 mg s.m.o./dm³·d. Autorzy pracy (Silambarasan i in., 2021) wykorzystali konsorcjum mikroglonów *Chlorella* sp. (KP972095) i *Scenedesmus* sp. (KR025877) także do oczyszczenia ścieków bytowych. Stężenie biomasy osiągnęło maksymalną wartość wynoszącą 1780 mg s.m.o./dm³ (w opcji 75% rozcieńczonych ścieków). Choć wyniki otrzymane w badaniach własnych nie pokrywają się zupełnie z badaniami innych autorów to potwierdzają one potencjał wykorzystania ścieków jako efektywnego i zrównoważonego źródła składników odżywczych w uprawie mikroglonów.



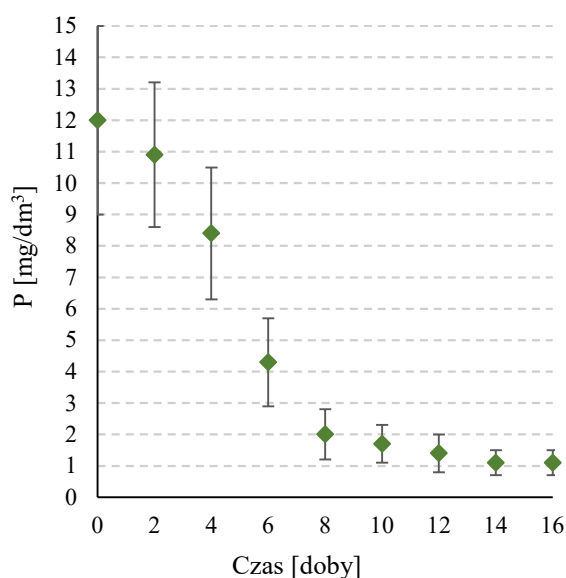
Rysunek 20 Zmiany stężenia biomasy *C. vulgaris* w ciągu cyklu hodowlanego (E1S1W2).



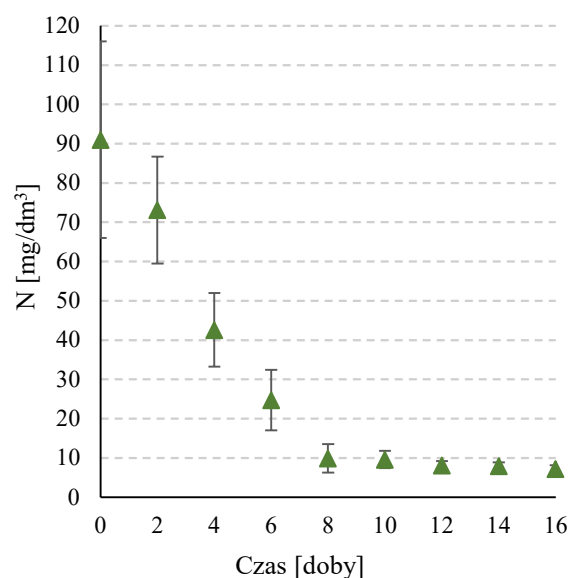
Rysunek 19 Zmiany stężenia ChZT w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W2).

Wydajność usuwania ChZT z fazy rozpuszczonej była niska i wynosiła $32,3 \pm 8,1\%$ (Rys. 19). Na zakończenie cyklu hodowlanego *C. vulgaris* wartość stężenia tego wskaźnika zanieczyszczeń oscylowała blisko wartości 613 ± 73 mgO₂/dm³. Stwierdzono, iż analizowane w trakcie prac eksperymentalnych substancje biogenne były wydajnie asymilowane przez wzrastającą populację *C. vulgaris* (Rys. 19, Rys. 20). W przytoczonym wcześniej badaniu (Tran i in., 2021) po upływie 14 dni osiągnięto efektywność usuwania ChZT dochodzącą do prawie 80%. Z kolei w badaniu, gdzie wykorzystano konsorcjum mikroglonów ChZT zostało usunięte z efektywnością wynoszącą 83% (w opcji 75% rozcieńczonych ścieków). Jednakże tak

efektywne usuwanie związków ChZT nie występuje zawsze. Podobne rezultaty, które otrzymano w badaniach własnych, zauważono także w pracy (Tang i in., 2023). Początkowe stężenie ChZT wynosiło 600 mg/dm^3 . Proces oczyszczania ścieków z wykorzystaniem mikroglonów z gatunku *Didymogenes* sp. CDU-W13 pozwolił na redukcję zanieczyszczeń ChZT do wartości około 300 mg/dm^3 , co odpowiada efektywności na poziomie 40%. Są to rezultaty porównywalne z uzyskanymi w badaniu własnym.



Rysunek 22 Zmiany stężenia fosforu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W2).

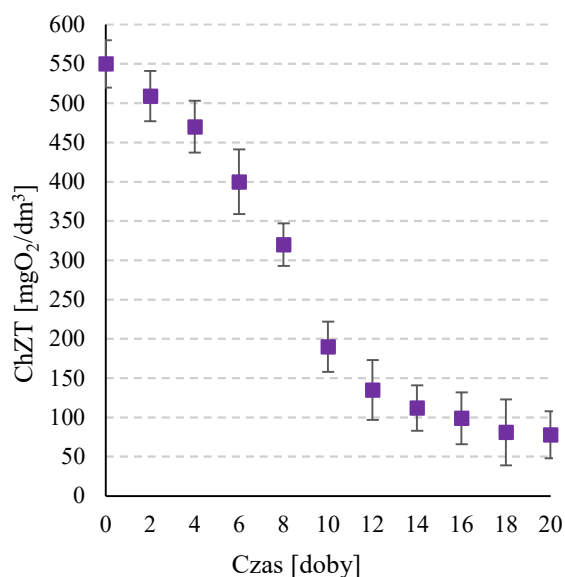


Rysunek 21 Zmiany stężenia azotu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W2).

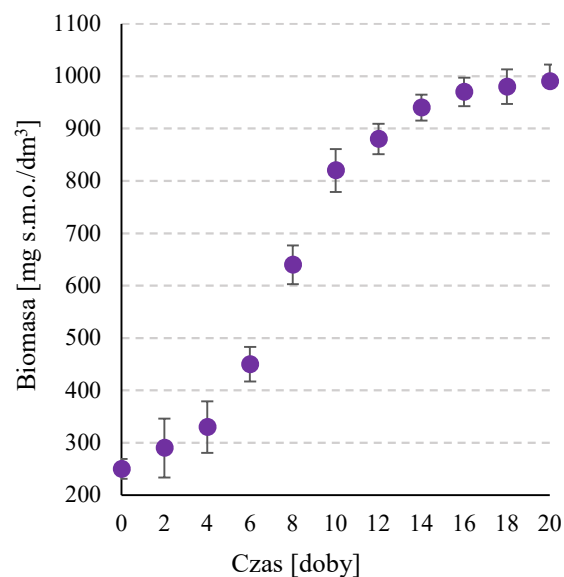
Zawartość związków fosforu w medium hodowlanym na zakończenie procesu hodowli biomasy wynosiła około $1,1 \pm 0,4 \text{ mg P}_{\text{og.}}/\text{dm}^3$ (Rys. 22). Sprawność wykorzystywania tego biogenu przez przyrastającą biomasę kształtowała się na poziomie $90,8 \pm 3,3\%$. Związki azotu zostały zużyte w około $92,1 \pm 1,0\%$, co skutkowało uzyskaniem stężenia w medium hodowlanym na zakończenie cyklu produkcyjnego kształtującego się na poziomie $7,2 \pm 0,9 \text{ mgN}_{\text{og.}}/\text{dm}^3$ (Rys. 21). Tak wysoką efektywność usuwania związków fosforu i azotu osiągnięto także w badaniach (Silambarasan i in., 2021). Początkowe stężenie fosforu w ściekach wynosiło $7,42 \text{ mg/dm}^3$ zaś azotu ogólnego $61,47 \text{ mg/dm}^3$. Najlepsze efekty usuwania związków fosforu osiągnięto w przypadku stosowania konsorcjum szczepów mikroglonów *Scenedesmus* sp. i *Chlorella* sp. osiągając efektywność usuwania P dochodzącą do 95%. Podobne rezultaty osiągnięto w przypadku związków azotu. Konsorcjum mikroglonów było w stanie usunąć $\text{N}_{\text{całk.}}$ do poziomu $3,69 \text{ mg/dm}^3$ co przekłada się na 94% efektywność usuwania tych związków. Podobne rezultaty otrzymano w pracy (Tran i in., 2021). W ciągu 14-17 dni uprawy *C. variabilis*

udało się usunąć odpowiednio 93,8-96,1% i 97,1-99,9% zanieczyszczeń w postaci azotu całkowitego i fosforu całkowitego. Zaobserwowana w badaniach własnych efektywność jest porównywalna z wynikami opisanymi w literaturze, gdzie również stosowano szczepy zielenic do oczyszczania ścieków bytowych.

W E1S2W1 prowadzono hodowlę *A. platensis* na bazie modelowych ścieków bytowych. W tym wariancie eksperymentalnym przyrost biomasy charakteryzował się szybkością wynoszącą $108 \pm 3,1$ mg s.m.o./dm³·d, co wpłynęło na uzyskanie końcowej koncentracji sinic na poziomie 990 ± 32 mg s.m.o./dm³ (Rys. 23). Związki organiczne w procesie hodowlanym *A. platensis* usunięto ze sprawnością $83,4 \pm 6,4\%$, co pozwoliło na uzyskanie stężenia końcowego ChZT kształtującego się na poziomie $78,0 \pm 30,0$ mgO₂/dm³ (Rys. 24).



Rysunek 24 Zmiany stężenia biomasy *A. platensis* w ciągu cyklu hodowlanego (E1S2W1).

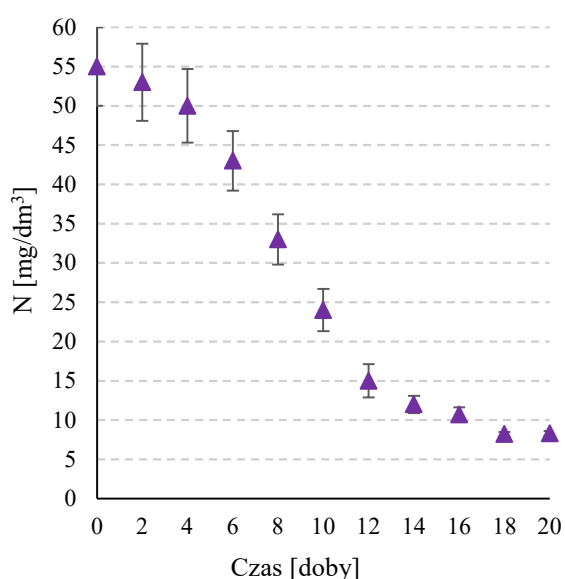


Rysunek 23 Zmiany stężenia ChZT w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S2W1).

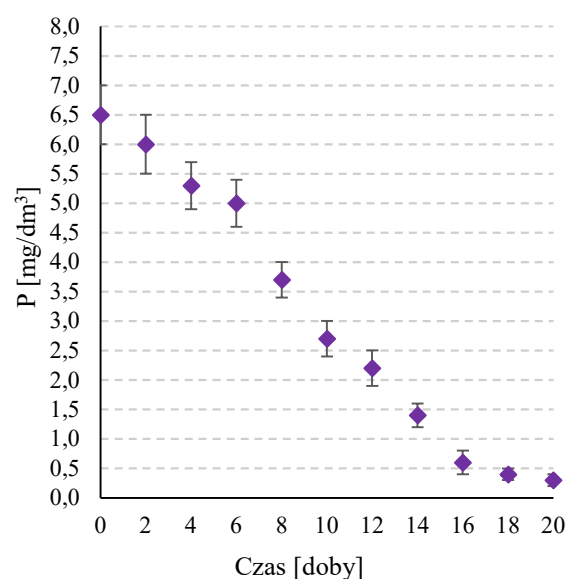
Stężenia związków biogenych w medium hodowlanym na zakończenie eksperymentu kształtowały się na poziomach $8,3 \pm 0,3$ mg N_{og}/dm³ oraz $0,3 \pm 0,1$ mg P_{og}/dm³ (Rys. 26, Rys. 25). Sprawność ich usuwania z modelowych ścieków wynosiła kolejno $83,4 \pm 0,6\%$ w przypadku N_{og} oraz $94,3 \pm 1,9\%$ dla P_{og}. (Rys. 27). W pracy (Silambarasan i in., 2021) wykorzystano dwa szczepy sinic *Microcoleus vaginatus* i *Scytonema javanicum*, które były hodowane odpowiednio w ściekach syntetycznych i bytowych. Efektywność usuwania związków biogenych ze ścieków syntetycznych była porównywalna z efektami osiągniętymi w badaniu własnym. Wykorzystanie *M. vaginatus* do oczyszczania ścieków syntetycznych pozwoliło osiągnąć 99,92% skuteczność usuwania azotu oraz 92,74% usuwania związków

fosforu. Dla porównania uprawa tego gatunku sinic w pożywce BG11 charakteryzowała się 99,95% usunięciem N oraz 94,12% usunięcia P. Z kolei szczep *S. javanicum* zdołał usunąć 97,60% azotu oraz 97,72% fosforu (w BG11 było to odpowiednio 96,95% i 96,07%).

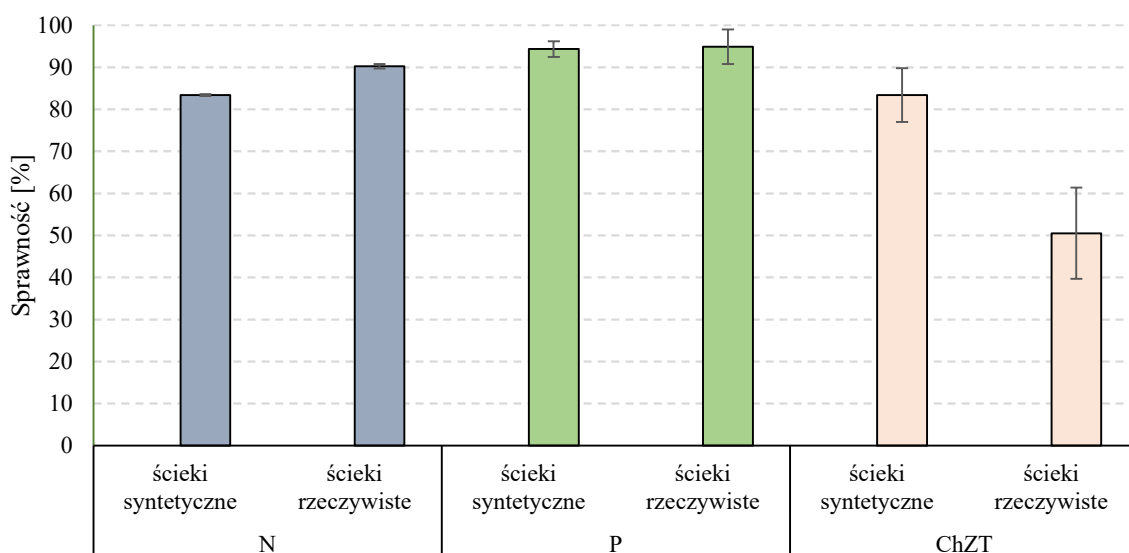
Uprawa sinic przy wykorzystaniu medium hodowlanego w postaci ścieków komunalnych pozwoliła także na ich poprawny wzrost. Efektywność usuwania związków azotu przy wykorzystaniu *M. vaginatus* wynosiła 98,96%. Związki fosforu w tym przypadku zostały usunięte na poziomie 97,60%. Szczep sinic z gatunku *S. javanicum* był w stanie usunąć N_{og} z efektywnością 98,47%, zaś P_{og} 98,06%. W porównaniu do wyników uzyskanych w niniejszym eksperymencie (83,4% usuwania N_{og} i 94,3% P_{og}), literatura wskazuje na wyższą efektywność usuwania obu typów związków przez zastosowanie sinic. Szczególnie widoczna jest różnica w usuwaniu związków azotu, gdzie wartości w przytoczonej pracy przekraczały 99%, co może wynikać zarówno z różnic w składzie ścieków, jak i właściwości zastosowanych mikroorganizmów.



Rysunek 26 Zmiany stężenia azotu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S2W1).



Rysunek 25 Zmiany stężenia fosforu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S2W1).

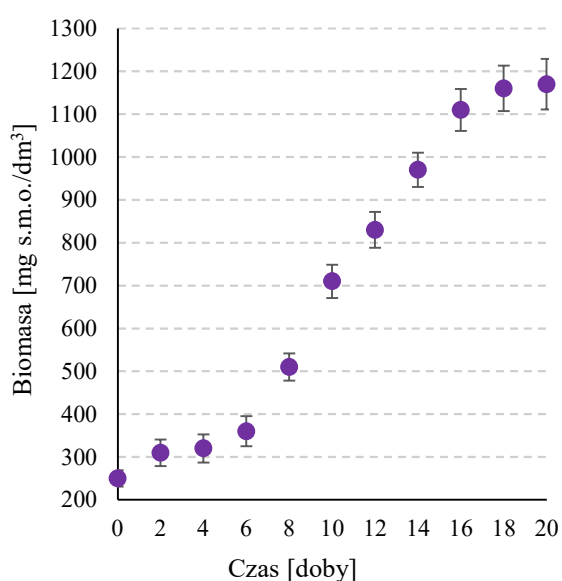


Rysunek 27 Sprawność usuwania monitorowanych wskaźników zanieczyszczeń w zależności od rodzaju stosowanych ścieków bytowych podczas hodowli *A. platensis*.

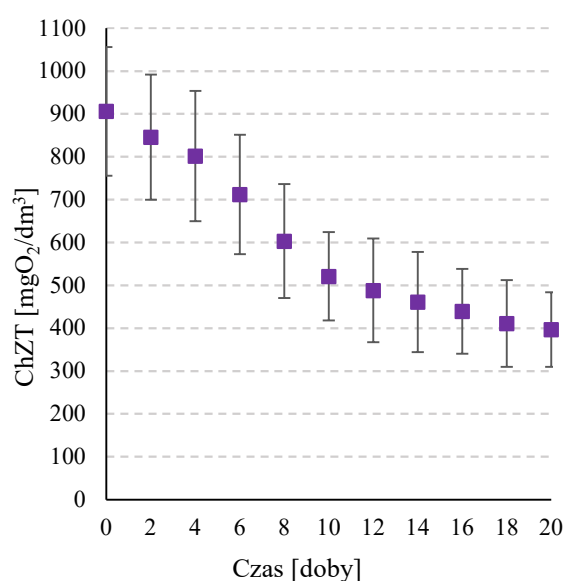
W E1S2W2 obserwowano istotnie statystycznie wyższe ($p \leq 0,05$) wartości wskaźników charakteryzujących tempo i wydajność przyrostu biomasy *A. platensis*. Końcowe stężenie biomasy w FBR wynosiło 1170 ± 59 mg s.m.o./dm³, przy obserwowanym dobowym tempie wzrostu na poziomie $150 \pm 7,6$ mg s.m.o./dm³·d (Rys. 29). Stwierdzono, iż związki azotu w tej części prac eksperymentalnych usuwano z wydajnością $90,3 \pm 0,5\%$, związki fosforu natomiast z efektywnością $94,9 \pm 4,1\%$. Stężenia tych związków biogenych w układzie technologicznym na zakończenie procesu hodowlanego wynosiły kolejno $7,7 \pm 0,4$ mg N_{og}/dm³ oraz $0,5 \pm 0,4$ mg P_{og}/dm³ (Rys. 30, Rys. 31). Stężenie związków organicznych charakteryzowanych wskaźnikiem ChZT kształtowało się na poziomie 397 ± 87 mgO₂/dm³ (Rys. 28), co było efektem $50,5 \pm 10,8\%$ sprawności usuwania tego wskaźnika zanieczyszczeń (Rys. 27).

W badaniu (Thi Kieu Oanh i in., 2022) skupiono się na ocenie zdolności oczyszczania ścieków bytowych przez sinice *A. platensis* SP4. Efektywność usuwania azotu ogólnego wyniosła 49,71%, natomiast średnia skuteczność usuwania fosforu całkowitego osiągnęła poziom 67,05%. Najwyższą efektywność zaobserwowano w przypadku usuwania ChZT, która wyniosła 95,53%. W przytoczonych badaniach zaobserwowano różnice w porównaniu do badań własnych w zakresie efektywności usuwania poszczególnych zanieczyszczeń - niższą skuteczność odnotowano w przypadku usuwania N_{og} i P_{og}, natomiast wyższą w zakresie usuwania związków organicznych oznaczanych jako ChZT. Z kolei w pracy (Chavan i Mutnuri, 2019) odnotowano stosunkowo niską efektywność usuwania zanieczyszczeń. Ścieki pochodziły z kampusu, który wyposażony jest w SBR do oczyszczania ścieków generowanych

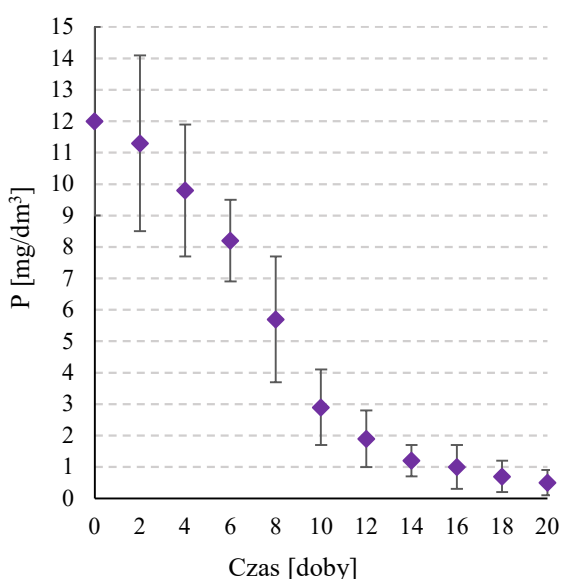
na miejscu. Cały proces obejmuje oczyszczanie wstępne (w celu usunięcia ciał stałych), a następnie oczyszczanie wtórne w SBR. Średnie stężenie biomasy wyniosło $610 \pm 0,13$ g s.m.o./dm³, co było wartością prawie dwukrotnie niższa niż uzyskana w badaniach własnych. Całkowite usunięcie ChZT wyniosło 17,88%, co było wartością niższą niż 50,5% uzyskaną w badaniach własnych. W przypadku związków fosforu usunięto 14,57% (spadek z 11,91 g do 10,17 g), co również było wynikiem niższym w porównaniu do rezultatów uzyskanych w przeprowadzonym przeze mnie doświadczeniu.



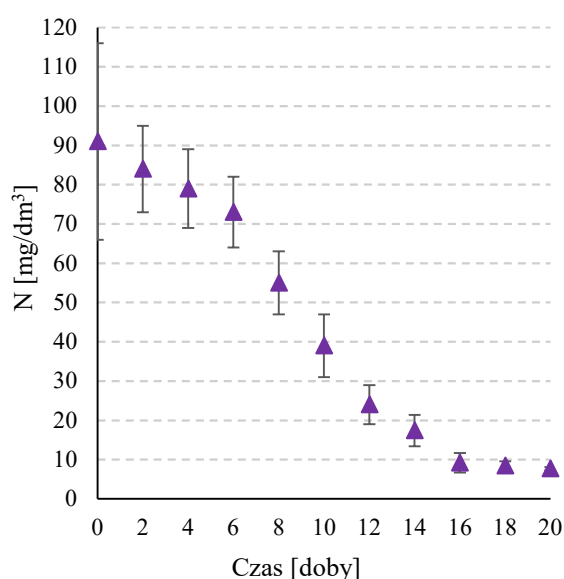
Rysunek 31 Zmiany stężenia biomasy *A. platensis* w ciągu cyklu hodowlanego (E1S2W2).



Rysunek 28 Zmiany stężenia ChZT w medium podczas cyklu hodowlanego (E1W2S2).



Rysunek 30 Zmiany stężenia fosforu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S2W2).



Rysunek 29 Zmiany stężenia azotu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S2W2).

6.1.2. Charakterystyka biomasy *C. vulgaris* i *A. platensis*

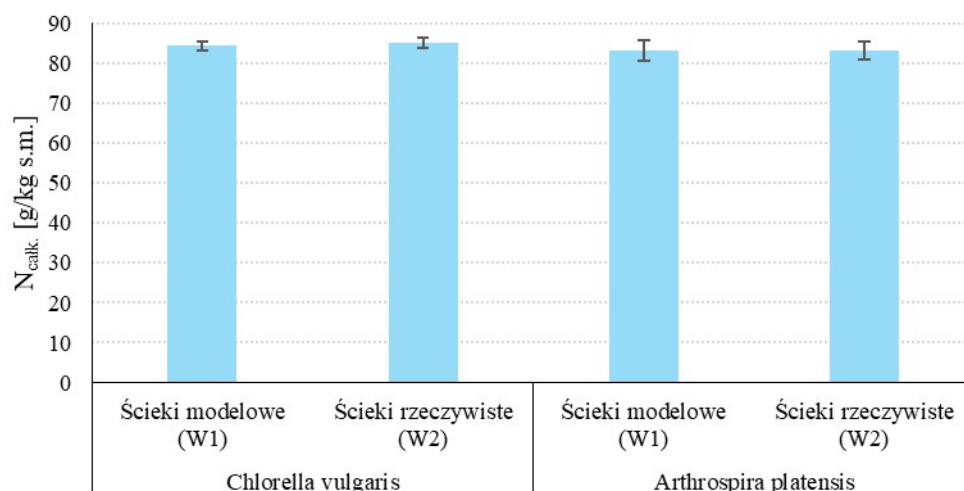
Po zakończeniu cyklu hodowlanego mikroglony i sinice separowano z medium hodowlanego poprzez wirowanie. A uzyskanej biomasy analizowano zawartość związków istotnych z punktu widzenia ich wykorzystania w procesie nawożenia marsjańskich i księżycowych symulantów regolitów. W biomacie identyfikowano stężenia związków azotu (N), fosforu (P), potasu (K) oraz materii organicznej (C). Wartości charakteryzowanych składników nawozowych zaprezentowano w tabeli 8.

Tabela 8. Stężenia związków nawozowych w biomacie *C. vulgaris* i *A. platensis* w zależności od wariantu eksperymentalnego.

Seria	Wariant	Wskaźnik			
		N _{całkowity}	P _{całkowity}	K _{całkowity}	C _{całkowity}
		[g/kg s.m.]			
<i>C. vulgaris</i>	Ścieki modelowe	84,3±1,1	15,9±3,7	8,2±1,9	493,3±39,2
	Ścieki rzeczywiste	85,1±1,4	15,4±3,5	8,6±2,1	470,7±61,9
<i>A. platensis</i>	Ścieki modelowe	83,2±2,7	17,1±1,3	8,3±0,9	498,5±19,7
	Ścieki rzeczywiste	83,1±2,3	17,5±2,0	8,6±1,3	502,4±31,1

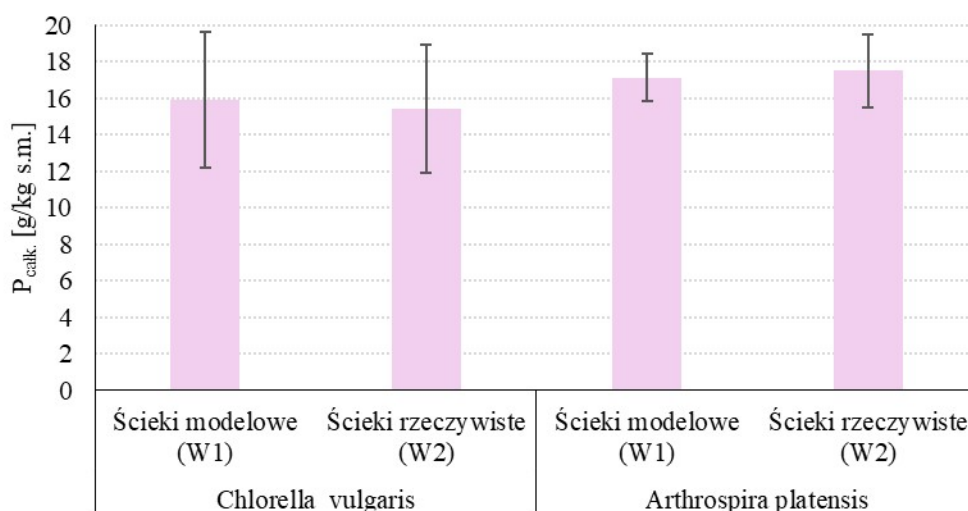
Zawartość azotu całkowitego (N_{całk.}) w biomacie *C. vulgaris* (S1) wynosiła 84,3±1,1 g/kg s.m. w W1 (Rys. 32), gdzie medium hodowlane oparto na bytowych ściekach modelowych oraz 85,1±1,4 g/kg s.m. (Rys. 32) w pożywce bazującej na ściekach rzeczywistych (W2) (Tabela 5). Tak wysokie wartości świadczą o efektywnej asymilacji związków azotowych ze ścieków. Zjawisko to znajduje potwierdzenie w literaturze, gdzie udowodniono zdolność mikroglonów do bioasymilacji zarówno jonów amonowych, jak i azotanów oraz opisano mechanizmy przekształcania ich w związki strukturalne, głównie białka i aminokwasy (Zhang i in., 2023). *A. platensis* (S2) niezależnie od stosowanego medium hodowlanego wykazała zbliżoną zawartość N_{całk.} w biomacie kształtująca się na poziomie 83,2±2,7 g/kg s.m. (W1) i 83,1±2,3 g/kg s.m. (W2) (Tabela 8). Niezależnie od serii i wariantu badawczego stwierdzono, iż obserwowane różnice stężeń związków azotu w biomacie mikroglonów i sinic były niewielkie. Wskazuje to na wysoką tolerancję obu testowanych mikroorganizmów na skład chemiczny i charakterystykę medium oraz możliwość wykorzystania ścieków rzeczywistych jako ekonomicznego źródła składników odżywczych do produkcji biomasy o przewidywalnym składzie chemicznym (Gupta i in., 2024). Jest to istotna obserwacja w kontekście

wykorzystania tego rodzaju substratu do wzbogacania podłoży pozaziemskich (Revellame i in., 2021).



Rysunek 32 Zawartość azotu całkowitego w biomacie *C. vulgaris* i *A. platensis* hodowanych w ściekach modelowych i rzeczywistych.

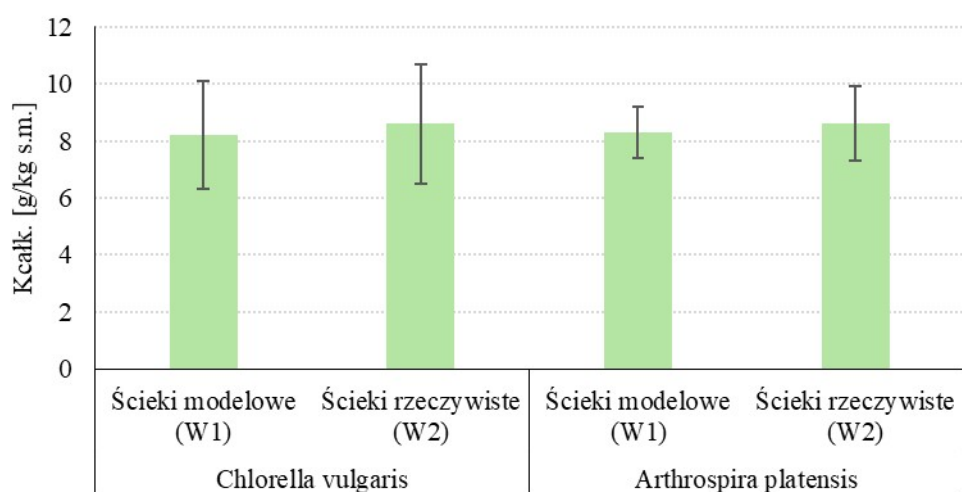
Analiza zawartości $P_{\text{całk.}}$ w wykazała wyraźniejszą różnicę między testowanymi gatunkami mikroglonów i sinic. *C. vulgaris* zakumulowała $P_{\text{całk.}}$ na poziomie $15,9 \pm 3,7$ g/kg s.m. w procesie hodowli na ściekach modelowych (W1) i $15,4 \pm 3,5$ g/kg s.m. w medium opartym na ściekach rzeczywistych (W2) (Tabela 5). *A. platensis* natomiast osiągała wyższe wartości stężeń tego pierwiastka biogenego w biomacie, które wynosiły kolejno $17,1 \pm 1,3$ g/kg s.m. (W1) i $17,5 \pm 2,0$ g/kg s.m. (W2) (Rys. 33).



Rysunek 33 Zawartość fosforu całkowitego w biomacie *C. vulgaris* i *A. platensis* hodowanych w ściekach modelowych i rzeczywistych.

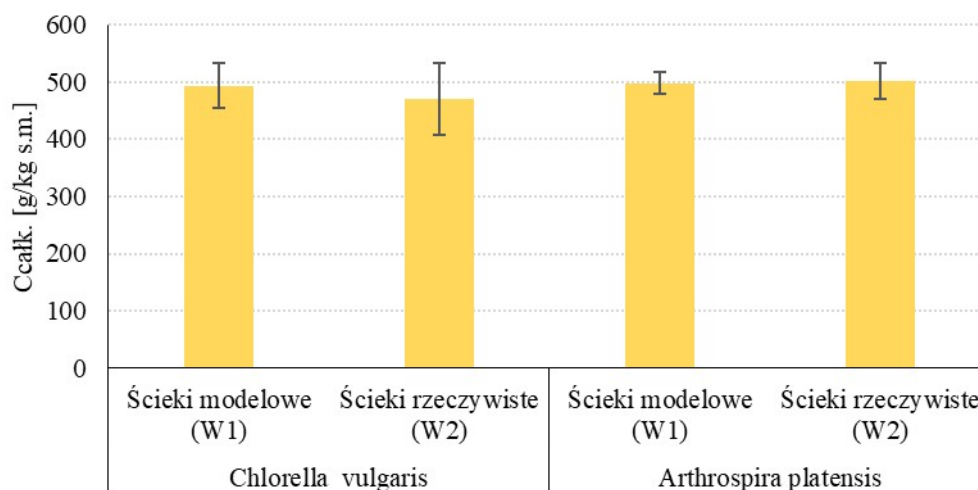
Mimo, iż średnie wartości koncentracji $P_{\text{całk.}}$ w biomacie w zależności od serii (S1, S2) były odmienne to analiza statystyczna wyników nie potwierdziła istotności obserwowanych różnic ($p \leq 0,05$). Może to wynikać z lepszej adaptacji *A. platensis* do środowisk zasobnych w fosfor, co znajduje potwierdzenie w doniesieniach wskazujących na jej wydajność w czyszczeniu ścieków oraz zdolność do wewnątrzkomórkowego magazynowania fosforanów (Markou i in., 2012, 2015).

Zawartość potasu ($K_{\text{całk.}}$) w analizowanej biomacie *C. vulgaris* i *A. platensis* mikroorganizmów mieściła się w wąskim zakresie od $8,2 \pm 1,9$ do $8,6 \pm 2,1$ g/kg s.m., (Rys. 34) bez istotnych różnic ($p \leq 0,05$) między stosowanymi typami pożywek oraz między gatunkami (Tabela 5). Takie wartości są zgodne z literaturą, w której wykazano, że $K_{\text{całk.}}$ choć nie jest składnikiem strukturalnym komórki, odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu równowagi osmotycznej, aktywacji enzymów oraz transporcie jonów przez błony komórkowe (Xu i in., 2020). Dla zastosowań nawozowych obecność potasu w biomacie mikroglonów i sinic ma szczególne znaczenie - pierwiastek ten wspomaga wzrost korzeni i zwiększa odporność roślin na stres abiotyczny, zwłaszcza suszę i zasolenie, co jest szczególnie ważne w warunkach symulowanego środowiska regolitu, gdzie przewodnictwo jonowe może być zaburzone, a dostępność K^+ ograniczona (Xu i in., 2023). Z punktu widzenia składu nawozowego, zawartość K przekraczająca 8 g/kg s.m. jest wystarczająca, by uznać taką biomasę za użyteczny komponent organiczny w produkcji bionawozów (Gonçalves, 2021). Co istotne, potas zawarty w mikroglonach i sinicach występuje głównie w formach łatwo dostępnych dla roślin, co czyni go konkurencyjnym względem tradycyjnych źródeł K stosowanych w nawozach mineralnych (Xu i in., 2023).



Rysunek 34 Zawartość potasu całkowitego w biomacie *C. vulgaris* i *A. platensis* hodowanych w ściekach modelowych i rzeczywistych.

Zawartość węgla ogólnego w biomacie mikroglonów i sinic mieściła się w przedziale od $470,7 \pm 61,9$ g/kg s.m. (S1W2) do $502,4 \pm 31,1$ g/kg s.m. (S2W2) (Rys. 35), co stanowiło około 47-50% suchej masy. Wartości te są zgodne z literaturą przedmiotu, w której typowy udział węgla w suchej masie mikroglonów i sinic zawiera się w przedziale 40-55%, w zależności od warunków hodowli i stadium wzrostu (Romero-Frasca i in., 2024). W przypadku *C. vulgaris* (S1), zawartość C wyniosła $493,3 \pm 39,2$ g/kg s.m. w biomacie hodowanej na ściekach modelowych (W1) oraz $470,7 \pm 61,9$ g/kg s.m. w warunkach rzeczywistych (W2) (Tabela 5). Choć różnica ta nie była istotna statystycznie ($p \leq 0,05$), można zaobserwować tendencję do nieco niższej zawartości węgla w przypadku ścieków rzeczywistych. Może to wynikać z większej złożoności chemicznej rzeczywistej pożywki, obecności substancji toksycznych lub inhibitorów (np. metale ciężkie, detergenty), które wpływają na metabolizm fotosyntetyczny i tempo biosyntezy związków organicznych (Xiao i in., 2023).



Rysunek 35 Zawartość węgla całkowitego w biomacie *C. vulgaris* i *A. platensis* hodowanych w ściekach modelowych i rzeczywistych.

W przypadku *A. platensis* (S2) uzyskano wyższe wartości $C_{\text{całk.}}$ w obu wariantach technologicznych, a mianowicie $498,5 \pm 19,7$ g/kg s.m. (Rys. 35) dla ścieków modelowych (W1) oraz aż $502,4 \pm 31,1$ g/kg s.m. dla rzeczywistych (W2) (Tabela 5). Oznacza to, że *A. platensis* była w stanie nie tylko utrzymać wysoki poziom akumulacji węgla niezależnie od typu medium, ale również potencjalnie lepiej adaptować się do warunków środowiskowych obecnych w rzeczywistych ściekach. Sinice takie jak *A. platensis* wykazują naturalną odporność na zmienne i niekorzystne warunki chemiczne dzięki strukturze komórkowej, obecności osłon śluzowych oraz aktywności enzymatycznej zdolnej do detoksykacji metali i fenoli (Dębowski i in., 2024).

Stwierdzono, iż różnica między testowanymi gatunkami była bardziej widoczna w W2, gdzie wykorzystano ścieki rzeczywiste. Zawartość węgla w biomacie *A. platensis* ($502,4 \pm 31,1$

g/kg s.m.) była istotnie wyższa niż w biomacie *C. vulgaris* ($470,7 \pm 61,9$ g/kg s.m.). Wskazuje to na potencjalną przewagę *A. platensis* w scenariuszach zastosowań biotechnologicznych z wykorzystaniem odpadów rzeczywistych, np. w warunkach habitatów kosmicznych, gdzie medium może zawierać różnorodne związki organiczne i nieorganiczne niewystępujące w środowisku naturalnym (Fisher i in., 2024). Ponadto, relatywnie niska zmienność wyników w próbach z *A. platensis* (niższe wartości odchyłeń standardowych) może sugerować większą stabilność produkcji w warunkach zbliżonych do przemysłowych. Tego typu stabilność jest szczególnie istotna w kontekście produkcji bionawozów do nawożenia symulantów regolitu, gdzie przewidywalność składu biomasy przekłada się na skuteczność aplikacyjną.

W warunkach symulowanego środowiska regolitu księżycowego i marsjańskiego, które są wyjątkowo ubogie w materię organiczną i pozbawione mikrobiomu glebowego, dodatek biomasy mikroglonów i sinic zasobnych w związki organiczne może stanowić nie tylko źródło składników pokarmowych, ale również inicjator procesów glebotwórczych (np. humifikacji lub kolonizacji przez mikroorganizmy heterotroficzne) (Ammar i in., 2022). Biomasa bogata w węgiel może również działać jako bufor chemiczny, stabilizując pH podłoża oraz ograniczając mobilność metali ciężkich obecnych w symulantach regolitu (np. Fe, Al) (Gonçalves i in., 2023). Z punktu widzenia strategii wykorzystania zasobów in-situ (ISRU - in situ resource utilization), możliwość pozyskiwania biomasy bogatej w C i K z lokalnych odpadów (np. ścieków generowanych w habitacie załogowym) może znacząco zmniejszyć potrzebę dostarczania zasobów z Ziemi, co jest kluczowe dla długoterminowych misji księżycowych i marsjańskich (Cao i in., 2023). Eksperymenty hodowlane przeprowadzone w E1 wykazały, iż zarówno *C. vulgaris*, jak i *A. platensis* cechują się dużą plastycznością metaboliczną i porównywalnymi zdolnościami akumulacyjnymi w warunkach hodowli na ściekach modelowych i rzeczywistych. Otrzymane wyniki są szczególnie istotne w kontekście potencjalnego zastosowania takiej biomasy jako źródła biogenów w nawożeniu symulantów regolitów planetarnych, gdzie zawartość dostępnych form N, P i K jest znikoma lub całkowicie nieobecna (Ding i in., 2024; Kasiviswanathan i in., 2022). Biomasa tego typu może pełnić w tym układzie rolę biostymulatora wzrostu roślin oraz naturalnego magazynu pierwiastków, który ulega powolnemu rozkładowi i uwalnianiu składników odżywczych (Gonçalves i in., 2023).

6.1.3. Charakterystyka podłoża kontrolnego oraz symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych

Składniki organiczne wchodzące w skład podłoża kontrolnego to torf szwedzki (20%), torf bałtycki (40%) oraz torf ogrodowy (40%). Zawartość torfów wpływa na kwasowość podłoża, co jest istotne w kontekście wymagań pH uprawianych roślin (Lee i in., 2021). Podłoże zawiera preparat o nazwie handlowej Dolokal. Jest to materiał wapniowy, który stabilizuje zakwaszenie podłoża. Dodatkowo, obecność mieszanki mikroelementów o nazwie handlowej Pg mix zapewnia roślinom dostęp do minerałów takich jak: Mg (0,29%), $(\text{SO}_3 \text{ 60\%})$, B (0,18%), Cu (0,5%), Fe (0,7%), Mn (0,7%), Mo (0,4%), Zn (0,16%), poprawiając ich zdolność do przyswajania składników pokarmowych (Fan i in., 2021). Podłoże kontrolne charakteryzuje się całkowitą zawartością azotu ($N_{\text{całk.}}$) na poziomie $12,4 \pm 6,3 \text{ g/kg s.m.}$, fosforu ($P_{\text{całk.}}$) wynoszącą $2,2 \pm 1,7 \text{ g/kg s.m.}$ oraz potasu ($K_{\text{całk.}}$) w ilości $18,8 \pm 12,1 \text{ g/kg s.}$ (Tab. 6). Ze względu na swoje właściwości fizykochemiczne, podłoże to zostało wykorzystane w eksperymencie jako próba referencyjna. Tego rodzaju podłoże było wcześniej wykorzystywane jako kontrola w eksperymentach dotyczących uprawy roślin na symulantach regolitów księżycowych i marsjańskich (Wamelink et al., 2019). Symulanty regolitów marsjańskich i księżycowych, takie jak E2S1W3, E2S1W6, E2S2W4 (The Martian Garden), E2S1W7 oraz E2S2W5 (Space Resource Technologies) - produkt wyprodukowany przed 06.2021), zostały scharakteryzowane na podstawie dostępnych danych literaturowych i specyfikacji wytwórcy. Natomiast w przypadku symulantów E2S1W2, E2S2W2, E2S1W4, E2S1W5 oraz E2S2W3 przeprowadzono własne analizy w celu określenia ich składu chemicznego.

Skład chemiczny określono na podstawie zawartości głównych tlenków pierwiastków (% wag.). Najwyższą zawartość ditlenku krzemu (SiO_2) odnotowano w symulantach E2S1W6 i E2S2W4 (49,40%) oraz E2S1W4 (48,55%), natomiast najniższą - w E2S1W5 i E2S2W3 (41,86%). Krzem stanowi główny składnik mineralny regolitu i odpowiada za jego strukturę oraz pojemność sorpcyjną (Schaller i in., 2021), jednak w formie SiO_2 jest chemicznie obojętny i nieprzyswajalny dla roślin. Zawartość Al_2O_3 , będącego źródłem glinu i często powiązanego z toksycznością jonową w niskim pH (Ryan i Delhaize, 2010), wahała się w szerokim zakresie: od 0,97% w E2S1W5 i E2S2W3 do 17,10% w E2S1W6 i E2S2W4. Znaczące różnice zaobserwowano również w zawartości związków żelaza. Tlenek żelaza (III) (Fe_2O_3) występował w zakresie od 0,86% (E2S1W5, E2S2W3) do 10,87% (E2S1W7, E2S2W5), natomiast obecność tlenku żelaza(II) (FeO) wykazano jedynie dla E2S1W3, E2S1W2, E2S2W2, E2S1W4, z najwyższą wartością 7,35% w E2S1W3. Duża zawartość żelaza może

sprzyjać aktywności enzymatycznej mikroorganizmów, jednak nadmiar Fe^{2+} w warunkach anaerobowych może prowadzić do toksyczności (Poulton i Canfield, 2005). Tlenek magnezu (MgO) był obecny w szerokim zakresie: od zaledwie 0,087% w AGK-2010 do aż 9,01% w JSC-1A. Tak wysoka zawartość MgO w symulantach może wpływać na zasadowość podłoża oraz antagonizm z przyswajaniem wapnia i potasu (Gransee i Führs, 2013). Z kolei zawartość CaO była stosunkowo stabilna (ok. 10,25-10,45%) w symulantach księżycowych (E2S1W3, E2S1W2, E2S2W2, E2S1W4), natomiast znacznie niższa w E2S1W5, E2S2W3 (0,32%). Wapń pełni ważną funkcję w kationowym buforze gleby, dlatego jego obecność jest kluczowa w warunkach niskiej zawartości materii organicznej (Dou i in., 2023). Zawartość sodu i potasu, reprezentowana przez Na_2O i K_2O , również wykazywała zmienność. Na_2O osiągało od 0,24% (E2S1W5, E2S2W3) do 3,28% (E2S1W6, E2S2W4), a K_2O - od 0,6% (E2S1W7, E2S2W5) do 0,82% w E2S1W3 i E2S1W4. Oba te pierwiastki są kluczowe dla gospodarki jonowej roślin (Kronzucker i Britto, 2011; Wang i in., 2013).

6.2. ETAP 2

6.2.1. Nawożenie biomasa *C. vulgaris*

MGS-1

W omówieniu wyników nie uwzględniono rezultatów otrzymanych na symulancie regolitu MGS-1 (E2S1W7 oraz E2S2W5), ponieważ w tych wariantach eksperymentalnych nie stwierdzono wzrostu rośliny kontrolnej, czego konsekwencją był brak plonu sałaty masłowej, który można było poddać dalszym analizom. Zaobserwowane zjawisko można tłumaczyć obecnością nadchloranów w tym podłożu. Nadchlorany to związki naturalnie występujące na Marsie (Cull i in., 2010). Zostały zidentyfikowane jako istotne wyzwanie w kontekście uprawy roślin na regolicie marsjańskim (Oze i in., 2021). Nadchlorany (ClO_4^-) to silnie utleniające sole, powszechnie występujące w glebie marsjańskiej, gdzie ich stężenia wahają się od 0,5 do 1% wagowo (Davila i in., 2013). Wiadomo, że związki te zakłócają procesy fizjologiczne roślin, w tym pobieranie składników odżywczych i metabolizm komórkowy, co prowadzi do zahamowania wzrostu (Davila i in., 2013). Właśnie obecnością nadchloranów w symulancie regolitu marsjańskiego MGS-1 (0,4% Cl) można tłumaczyć brak wzrostu sałaty masłowej. Udowodniono, iż związki te wywołują stres oksydacyjny i zakłócają podstawową aktywność enzymatyczną roślin (Erickson i in., 2015).

Zatrzymanie lub istotna inhibicja rozwoju biomasy roślinnej na podłożu stanowiącym regolit zawierający nadchlorany podkreśla potrzebę opracowania strategii łagodzenia

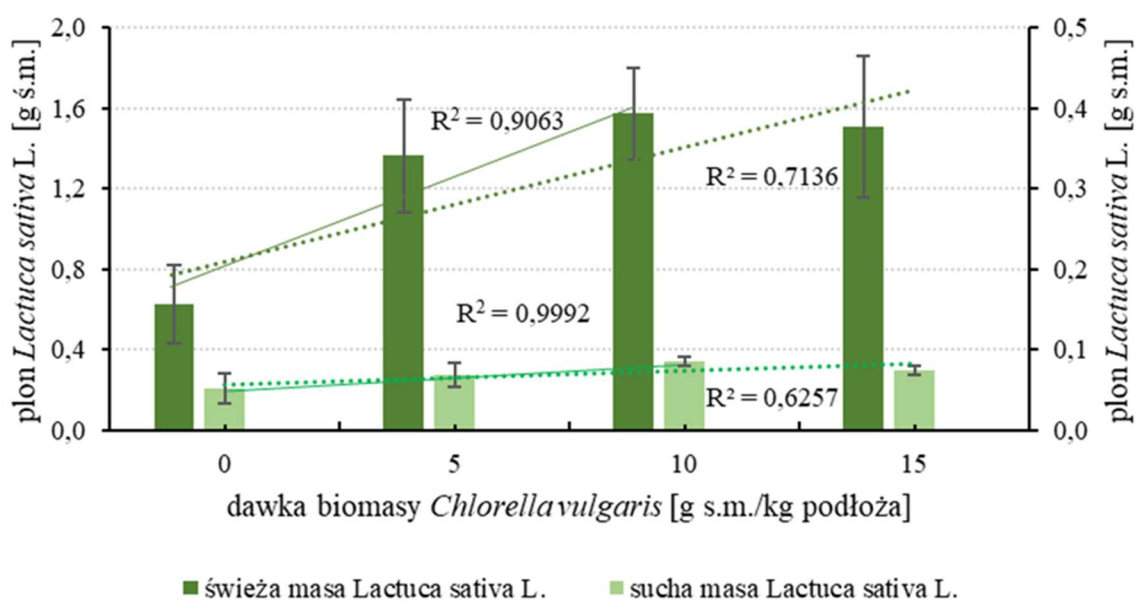
toksycznych skutków tych związków. Potencjalne rozwiązania obejmują wykorzystanie mikroorganizmów redukujących nadchlorany, które, jak wykazano, rozkładają te związki na mniej szkodliwe produkty uboczne, takie jak chlorek i tlen (Coates i Achenbach, 2004). Autorzy publikacji (Misra i in., 2021) analizowali biologiczne metody remediacji nadchlorów w regolicie marsjańskim w celu przystosowania przyszłych marsjańskich siedlisk do zrównoważonej produkcji upraw poprzez wykorzystanie zasobów in situ (ISRU). Zaproponowano dwa główne procesy, a mianowicie fitoremediację i remediację mikrobiologiczną. Fitoremediacja polega na wykorzystaniu roślin do absorpcji, degradacji lub rozkładu nadchloranu poprzez fitoakumulację, fitodegradację i ryzodegradację, przy czym potencjalne gatunki roślin zostały zidentyfikowane w tym celu (Wei i in., 2021). Remediacja mikrobiologiczna wykorzystuje ekstremofile i mikroorganizmy ryzosferowe dostosowane do prowadzenia procesów metabolicznych w trudnych warunkach jakie panują na powierzchni Marsa (Rzymiski i in., 2022). Ponadto, zastosowanie dodatków do gleby, takich jak materia organiczna lub reduktory chemiczne, może pomóc zneutralizować nadchlorany i poprawić żyzność marsjańskiego regolitu (Wamelink i in., 2014). Innym rozwiązaniem może być wykorzystanie inżynierii genetycznej w celu zwiększenia tolerancji roślin na nadchlorany, jak wykazano w ostatnich badaniach nad *Arabidopsis thaliana* (Zhao i in., 2025). Ponadto, integracja zaawansowanych technologii obróbki gleby, takich jak redukcja elektrochemiczna, mogłaby zapewnić realną ścieżkę do przekształcenia marsjańskiego regolitu w grunty orne (Ming i in., 2014).

W badaniach własnych, podobnie jak w badaniu opublikowanym w artykule (Oze i in., 2021), wykorzystujących symulant regolitu marsjańskiego wzbogacony o nadchlorany, również nie zaobserwowano kiełkowania roślin.

Ziemia ogrodowa

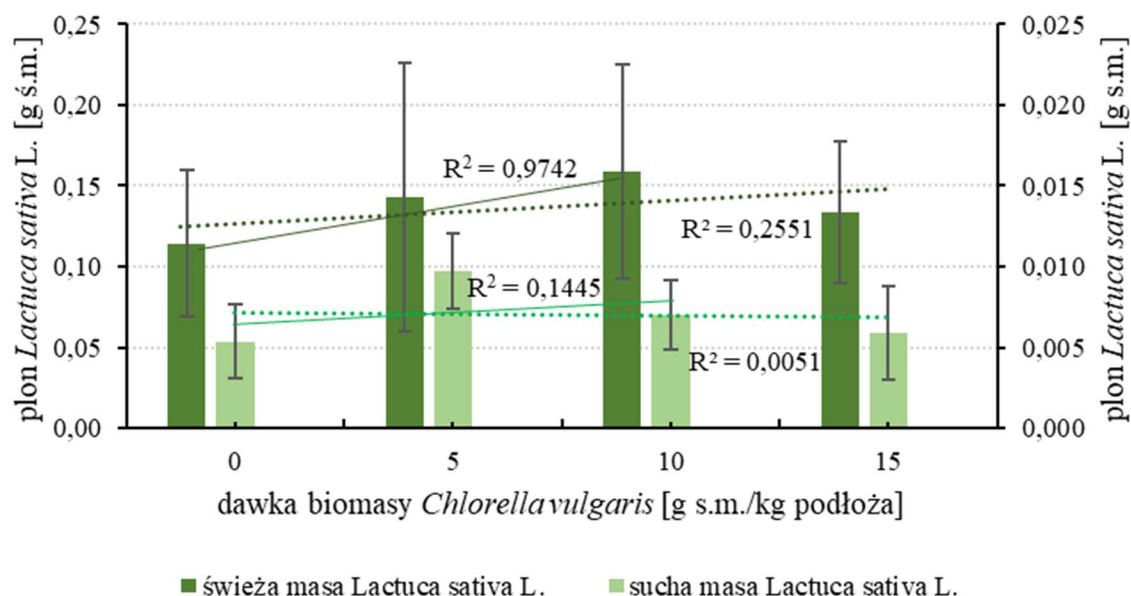
W E2S1, stosowanym materiałem nawozowym była biomasa *C. vulgaris*. E2S1W1 był wariantem kontrolnym, w którym stosowano ziemię ogrodową. W opcji bez stosowania nawożenia (E2S1W1D0) plon części nadziemnej sałaty masłowej (*Lactuca sativa* L.) wynosił $0,63 \pm 0,19$ g świeżej masy (ś.m.) (Rys. 36). W E2S1W1D5 uzyskana ilość biomasy części nadziemnej osiągnęła wartość $1,36 \pm 0,28$ g ś.m., co odpowiadało wzrostowi o 117% w stosunku do E2S1W1D0 (Rys. 36). Różnica była istotna statystycznie ($p \leq 0,05$). Zwiększenie dawki biomasy *C. vulgaris* do 10 g suchej masy (s.m.)/kg podłoża skutkowało wzrostem plonu o 150% względem E2S1W1D0, co pozwoliło uzyskać wartość $1,57 \pm 0,23$ g ś.m. (Rys. 36). W E2S1W1D15 natomiast uzyskana biomasa części nadziemnej sałaty masłowej kształtowała się

na poziomie $1,51 \pm 0,35$ g ś.m. Analiza statystyczna wykazała, iż zwiększenie dawki nawozowej do 15 g s.m./kg podłoża nie ma istotnego wpływu ($p \leq 0,05$) na uzyskaną wydajność przyrostu biomasy testowanej rośliny wskaźnikowej. Pozytywny wpływ zastosowania biomasy *C. vulgaris* jako dodatku glebowego na wzrost roślin zaobserwowano również w pracy (Faheed i Abd-el Fattah, 2008). Uprawę prowadzono w kontrolowanych warunkach szklarniowych. Rośliny uprawiano z wykorzystaniem gleby ziemskiej, którą wzbogacono zarówno świeżą, jak i suchą biomasą mikroglonów. Niezależnie od rodzaju testowanej biomasy *C. vulgaris* wykazano wyższe przyrosty w odniesieniu do świeżej i suchej masy sałaty masłowej w porównaniu do gleby nienawożonej. Największy przyrost świeżej masy uzyskano w wariancie z dodatkiem 3 g s.m./kg gleby. W tym przypadku średnia świeża masa roślin wynosiła 10,8 g. Stanowiło to wzrost o 170% względem próby kontrolnej, gdzie plon wyniósł 4,0 g. Również w odniesieniu do świeżej biomasy rośliny wskaźnikowej, dodatek 3 g s.m./kg gleby skutkował wzrostem świeżej masy do 9,1 g, co odpowiada przyrostowi o 127,5%. Przyrosty sałaty masłowej były proporcjonalne do zastosowanej dawki biomasy *C. vulgaris* (Faheed i Abd-el Fattah, 2008).



Rysunek 36 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W1).

W eksperymencie własnym w odniesieniu do suchej masy części nadziemnej sałaty masłowej w E1S1W1D0 średnia sucha masa wynosiła $0,052 \pm 0,02$ g s.m. (Rys. 36). Aplikacja mikroglonów w dawce 5 g s.m./kg podłoża spowodowała wzrost tej wartości do $0,068 \pm 0,01$ g s.m., co stanowiło wzrost o 30% w porównaniu z kontrolą. W E1W1S1D10 zanotowano najwyższą ilość suchej masy części nadziemnej ($0,085 \pm 0,01$ g s.m.), co odpowiadało wzrostowi o 63% względem próby kontrolnej. Natomiast zastosowanie dawki 15 g/kg skutkowało uzyskaniem suchej masy na poziomie $0,075 \pm 0,01$ g s.m. Analiza statystyczna wykazała, iż



Rysunek 37 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W1).

najwyższe stężenie biomasy mikroglonów nie miało istotnego wpływu ($p \leq 0,05$) na uzyskaną wydajność przyrostu biomasy sałaty masłowej.

Także w badaniu przeprowadzonym przez (Faheed i Abd-el Fattah, 2008) analizowano suchą masę uzyskanego plonu sałaty masłowej. Stwierdzono, iż zastosowanie 3 g s.m. mikroglonów/kg gleby skutkowało wzrostem suchej masy o 260% z 0,50 g s.m. w kontroli do 1,80 g s.m. Wzrost świeżej masy w tym wariancie był istotnie niższy i wynosił 220%. Inni autorzy (Díaz et al., 2024) w eksperymencie wazonowym ocenili wpływ liofilizowanej biomasy mikroglonów z gatunku *C. vulgaris* (UTEX 265), *Scenedesmus obliquus* (UTEX 393) i *Haematococcus pluvialis* (UTEX 2505) na proces kiełkowania oraz wzrost sałaty (*Lactuca sativa* L.). W pracy zastosowano różne warianty zabiegów, uwzględniające zarówno pojedyncze gatunki mikroglonów, jak i ich mieszaniny, w celu określenia ich potencjału stymulującego w uprawie roślin. Wyniki tych badań wskazują, że zastosowanie kombinacji nawozowych w przeliczeniu na dm^3 (CV3- *C. vulgaris* 3 g, SO3- *S. obliquus* 3 g, CV1:HP1-

(mieszanina 1,00 g *C. vulgaris* oraz 1,00 g *H. pluvialis*, CV0.7:SO0.7:HP0.7- *C vulgaris* 0,66 g, *S. obliquus* 0,66 g and *H. pluvialis* 0,7 g) istotnie zwiększyło średnią suchą masę *L. sativa* w porównaniu z kontrolą, przy czym najwyższy przyrost (48%) odnotowano dla zabiegu SO3.

W badaniu własnym wartość współczynnika determinacji ($R^2 = 0,7136$), określającego zależność pomiędzy zastosowaną dawką nawozu a plonem świeżej masy sałaty masłowej, wskazuje na dobre dopasowanie modelu regresji. W zakresie dawek *C. vulgaris* od 0,0 do 10 g s.m./kg podłoża odnotowano wysoką wartość współczynnika determinacji ($R^2 = 0,9063$), co świadczy o bardzo dobrym dopasowaniu dawki nawozu a uzyskanym plonem oraz wysokiej trafności modelu regresji.

W odniesieniu do analizy suchej masy części nadziemnej, uzyskano wartość $R^2 = 0,6257$ w zakresie dawek od 0,0 do 15 g s.m./kg podłoża, co należy interpretować jako umiarkowaną siłę dopasowania modelu do danych empirycznych. Z kolei dla zakresu od 0,0 do 10 g s.m./kg podłoża współczynnik determinacji osiągnął wartość $R^2 = 0,9992$, wskazującą na niemal idealne dopasowanie modelu.

Analiza przyrostów części podziemnej sałaty masłowej wykazała, że w E1S1W1D0 średnia masa korzeni wynosiła $0,114 \pm 0,04$ g s.m. W E1S1W1D5 uzyskano wzrost ilości świeżej masy o 25%, do wartości $0,143 \pm 0,08$ g s.m. Zwiększenie dawki *C. vulgaris* do 10 g s.m./kg testowanego podłoża skutkowało dalszym wzrostem świeżej masy części podziemnej o 38% ($0,159 \pm 0,06$ g s.m.) (Rys. 37). W E1S1W1D15 masa korzeni wyniosła $0,13 \pm 0,04$ g s.m., co oznaczało wzrost o 16% względem kontroli, (Rys. 37). Dla pełnego zakresu dawek współczynnik determinacji wyniósł $R^2 = 0,2551$, co świadczy o słabej zależności między sposobem nawożenia a uzyskiwanym plonem części podziemnej. Dla trzech najniższych dawek *C. vulgaris* zaobserwowano wartość R^2 na poziomie 0,9742, co wskazuje na występowanie bardzo silnej korelacji. W pracy (Dai i in., 2024) dotyczącej wpływu nawożenia biomasą mikroglonów na wzrost *Lactuca sativa* L., autorzy wykazali istotny statystycznie ($p \leq 0,05$) wzrost świeżej masy korzeni w wyniku zastosowania supernatantu pochodzącego z trzech różnych trybów hodowli *C. vulgaris* (AC - autotroficzna, MC - mixotroficzna, HC - heterotroficzna). Największy wzrost świeżej masy korzeni - o 91,0% względem kontroli - zaobserwowano w wariancie AC. Istotne przyrosty odnotowano również w wariantach MC i HC, odpowiednio o 53% i 48,5%.

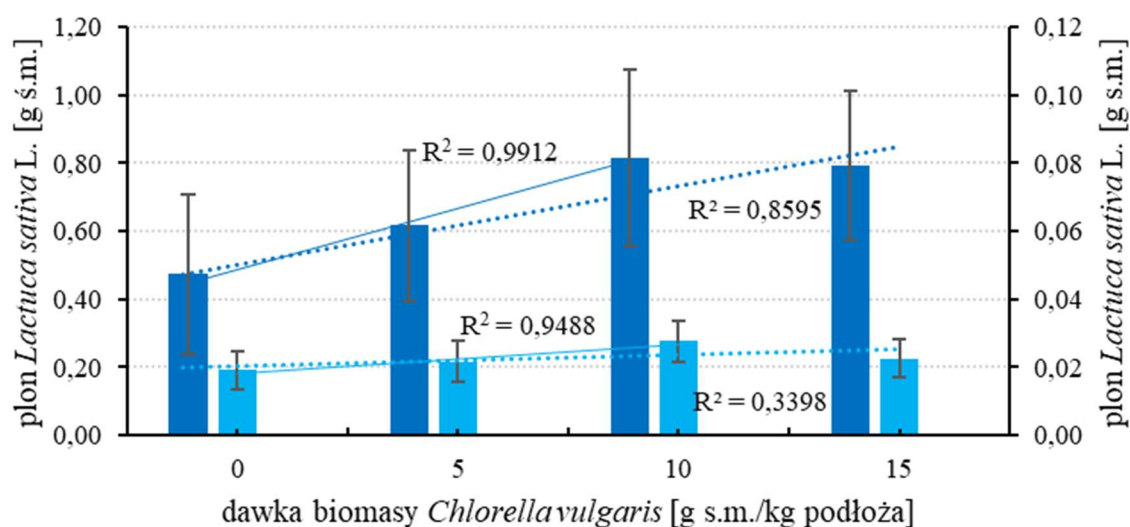
W przypadku analizy suchej masy części podziemnej, próba E1S1W1D0 charakteryzowała się plonem na poziomie $0,0053 \pm 0,002$ g s.m. Aplikacja mikroglonów w dawce 5 g s.m./kg podłoża spowodowała istotny ($p \leq 0,05$) wzrost suchej masy korzeni do $0,009 \pm 0,002$ g s.m., co było efektem zwiększenia plonu o 80% w stosunku do kontroli. Dalsze

zwiększanie dawki bionawozu nie wpływało istotnie ($p \leq 0,05$) na zwiększenie suchej masy części podziemnej sałaty masłowej. W E1S1W1D10 uzyskano $0,007 \pm 0,002$ g s.m., natomiast w E1S1W1D15 $0,005 \pm 0,002$ g s.m., (Rys. 37). Nie stwierdzono zależności między nawożeniem a uzyskaną suchą masą korzeni (Rys. 37).

Wyniki uzyskane badaniu przeprowadzonym przez (Mutale-joan i in., 2020) wykazują zgodność z własnymi obserwacjami. Autorzy także wskazali na pozytywny wpływ ekstraktów z biomasy mikroglonów (CBE - Crude Biomass Extracts) na przyrost suchej masy systemu korzeniowego roślin, w tym przypadku pomidora (*Solanum lycopersicum* L.). Szczególnie wysoką efektywność odnotowano dla ekstraktów pochodzących z gatunków słodkowodnych mikroglonów, takich jak *Aphanothece* sp. (34,81%), *Chlorella ellipsoidea* (29,11%), *Arthrospira maxima* (28,48%) oraz *Chlorella pyrenoidosa* (27,21%). Względnie niższe, choć nadal istotne ($p \leq 0,05$) przyrosty suchej masy korzeni uzyskano w przypadku zastosowania ekstraktów z mikroglonów morskich z gatunku *Tetraselmis suecica* (24,68%) oraz *Porphyridium* sp. (19,62%).

JSC-1A z recyklingu

E2S1W2 stanowił wariant, w którym zastosowano symulant regolitu księżycowego z recyklingu, kilkakrotnie wykorzystywany wcześniej do uprawy (Wamelink i in., 2014, 2019). W tym przypadku także zaobserwowano różnice w plonowaniu sałaty (*Lactuca sativa* L.) w zależności od zastosowanych dawek biomasy mikroglonów *C. vulgaris*. W wariantcie bez zastosowania nawożenia (E2S1W2D0) uzyskany średni plon świeżej masy części nadziemnej wynosił $0,474 \pm 0,22$ g ś.m. (Rys. 38). W E2S1W2D5 uzyskana ilość biomasy liści sałaty



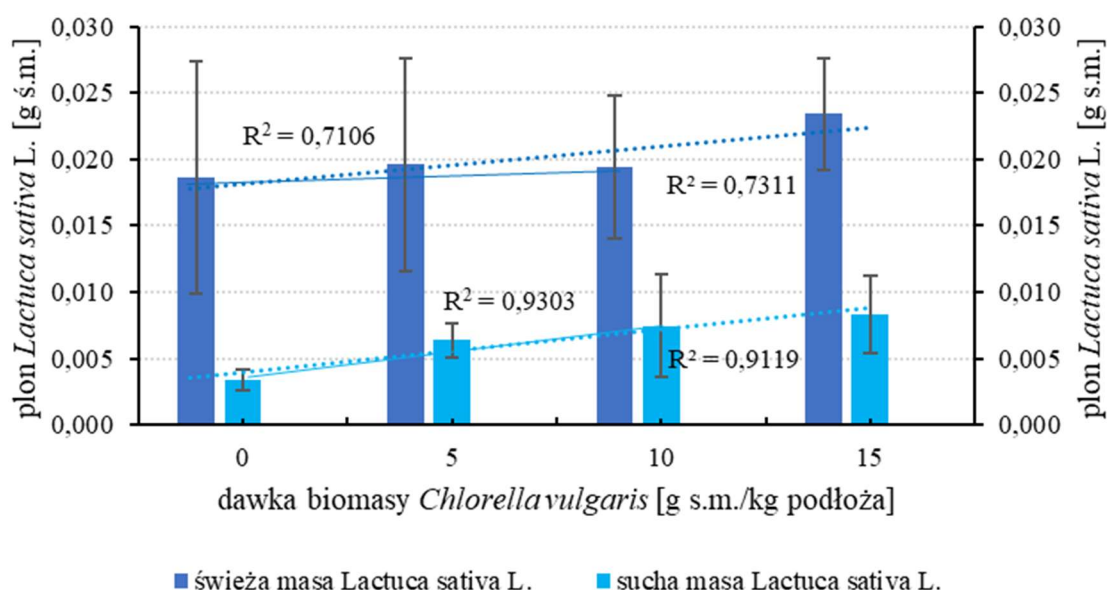
Rysunek 38 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosowanej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W2).

osiągnęła wartość $0,617 \pm 0,22$ g ś.m., co stanowiło wzrost o 30% w stosunku do E2S1W2D0. Aplikacja mikroglonów w ilości 10 g ś.m./kg podłoża pozwoliła na wzrostu plonu sałaty do poziomu $0,816 \pm 0,25$ g ś.m., co odpowiadało wzrostowi o 72% względem próby kontrolnej. W E2S1W2D15 otrzymano ilość biomasy wynoszącą $0,792 \pm 0,22$ g ś.m., co stanowiło wartość o 67% wyższą niż w E2S1W2D0 (Rys. 38). Analiza świeżej masy części nadziemnej sałaty masłowej w odpowiedzi na wszystkie zastosowane dawki biomasy zielenic wykazała wysoki współczynnik determinacji ($R^2 = 0,8595$), co wskazuje na dobre dopasowanie dawki bionawozu. Po uwzględnieniu wyłącznie trzech najniższych dawek biomasy *C. vulgaris*, wartość współczynnika determinacji wzrosła do $R^2 = 0,9063$, co świadczy o bardzo silnej korelacji między ilością zastosowanego bionawozu a wzrostem roślin.

W badaniu (Wamelink i Pouwels, 2024) także wykorzystywano ten sam symulant regolitu księżycowego JSC-1A, który został wzbogacony struwitem. Do każdego z podłoży zostało dodane także 10% materii organicznej. Próbę kontrolną stanowiła ziemia ogrodowa (doniczkowa). Rośliną wskaźnikową wykorzystaną w badaniu wazonowym była fasola szparagowa (*Phaseolus vulgaris*). Do każdego z podłoży dodano struwit w ilości 15 g/doniczka na początku eksperymentu oraz kolejne 25 g/doniczka po pływie 32 dni. Eksperyment trwał 106 dni. Plon rośliny wskaźnikowej uzyskany na podłożu stanowiącym symulant regolitu księżycowego JSC-1A wynosił 17,5 g ś.m. Po uzupełnieniu podłoża w składniki odżywcze w postaci struwitu, ilość biomasy fasoli szparagowej wzrosła do wartości 37,0 g ś.m., co odpowiada wzrostowi o ponad 110% względem próby nienawożonej. Były to wyniki zbliżone do uzyskanych w badaniach własnych. Różnice można tłumaczyć zastosowaniem innego rodzaju nawozu w przytoczonym badaniu, co mogło wpłynąć na dostępność składników odżywczych oraz tempo wzrostu roślin. Zastosowanie struwitu znacząco wspomaga plonowanie roślin, co wynika zarówno z jego składu chemicznego, jak i właściwości fizykochemicznych. Struwit dostarcza roślinom trzech kluczowych makroskładników: azotu (N), fosforu (P) oraz magnezu (Mg), które są niezbędne dla prawidłowego wzrostu, rozwoju i wydajnej fotosyntezy. W przeciwieństwie do biomasy mikroglonów, która uwalnia składniki pokarmowe w sposób mniej przewidywalny i zależny od stopnia mineralizacji materii organicznej w podłożu, struwit charakteryzuje się wolnym, ale stosunkowo stabilnym uwalnianiem składników odżywczych. Dzięki temu może zapewniać bardziej równomierne odżywienie roślin w całym cyklu uprawy.

W przeciwieństwie do wielu konwencjonalnych nawozów fosforowych, struwit charakteryzuje się niską rozpuszczalnością w wodzie, dzięki czemu działa jako nawóz o kontrolowanym uwalnianiu składników pokarmowych (CRF - controlled-release fertilizer).

Umożliwia to bardziej efektywne wykorzystanie dostarczanych pierwiastków przez rośliny i ogranicza ich straty w wyniku wymywania lub sorpcji do form niedostępnych (Talboys i in., 2016). Warto podkreślić, że choć symulant regolitu księżycowego umożliwiał uzyskanie



Rysunek 39 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W2).

znacznie wyższego plonu w warunkach braku nawożenia, to po zastosowaniu struwitu gleba ziemna wykazała wyraźnie lepszą reakcję na nawożenie (wzrost plonu o ponad 2000%). Plon uzyskany na glebie ziemskiej z dodatkiem nawozu był o 7,0 g wyższy w porównaniu z plonem osiągniętym na symulancie regolitu księżycowego, co stanowiło różnicę rzędu 16% względem wartości uzyskanej na glebie. Zastosowanie biomasy mikroglonów bądź sinic nie przynosi tak wysokiego plonowania, jednakże także wspomaga wzrost roślin uprawianych na jałowych podłożach pozaziemskich.

Ilość świeżej masy sałaty uzyskanej w wariancie E2S1W1D0 była o ponad 30% wyższa niż w przypadku E2S1W2D0. Wynik ten jest zgodny z wcześniejszymi badaniami, które wskazują, że plon roślin uprawianych na ziemi ogrodowej jest wyższy niż w przypadku upraw prowadzonych na symulantach regolitu księżycowego (Wamelink i in., 2019), co wynika m.in. z wyższej zawartości materii organicznej oraz lepszych właściwości retencyjnych gleby ziemskiej. Oszacowana pojemność wodna symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych to około 30% masy oraz 100% masy dla gleby organicznej pochodzenia ziemskiego (Wamelink i in., 2019).

Analiza suchej masy części nadziemnej charakteryzowała wartością na poziomie $0,0100 \pm 0,004$ g s.m. (Rys. 38) w odniesieniu do E2S1W2D0. Aplikacja nawozu w dawce 5 g s.m. /kg podłoża spowodowała ponad 2-krotny wzrost plonu osiągając wartość $0,022 \pm 0,005$ g

s.m., co stanowi wzrost o 120% względem próby kontrolnej. W E2S1W2D10 odnotowano przyrost suchej masy sałaty wynoszący $0,028 \pm 0,006$ g s.m., co stanowiło wzrost o 180% w stosunku do E2S1W2D0. W przypadku najwyższej dawki (15 g s.m. /kg podłoża) zaobserwowano ilość suchej masy rośliny wskaźnikowej na poziomie $0,023 \pm 0,005$ g s.m., stanowiło wartość o 130% wyższą niż w przypadku kontroli. Analiza suchej masy rośliny wskaźnikowej w przytoczonym wcześniej badaniu (Wamelink i Pouwels, 2024) także przedstawia zwiększenie plonu (suchej masy) po nawożeniu. Ilość biomasy fasoli szparagowej uzyskana na JSC-1A wraz z dodatkiem struwitu była o prawie 80% większa niż w próbie bez nawożenia. W porównaniu do plonowania roślin uprawianych na podłożach ziemskich i symulujących warunki pozaziemskie, w badaniach (Wamelink i in., 2019) stwierdzono, że ilość uzyskanej suchej masy roślin wskaźnikowych na podłożu z ziemi ogrodowej była o ponad połowę większa od plonu uzyskanego na symulancie regolitu księżycowego JSC-1A. W badaniu własnym w E2S1W1D0 ilość uzyskanej suchej masy liści sałaty masłowej była o ponad 170% większa od uzyskanej w E2S1W2D0.

Analiza współczynnika determinacji dla suchej masy części nadziemnej sałaty masłowej wykazała wartość $R^2 = 0,3398$ w przypadku uwzględnienia pełnego zakresu zastosowanych dawek bionawozu, co wskazuje na słabą zależność pomiędzy ilością biomasy *C. vulgaris* a uzyskanym plonem rośliny wskaźnikowej. Natomiast ograniczenie analizy do zakresu dawek od 0,0 do 10 g s.m./kg podłoża spowodowało znaczny wzrost wartości współczynnika determinacji do $R^2 = 0,9992$, co świadczy o bardzo dobrym dopasowaniu dawki bionawozu a plonowaniem sałaty masłowej w tym przedziale.

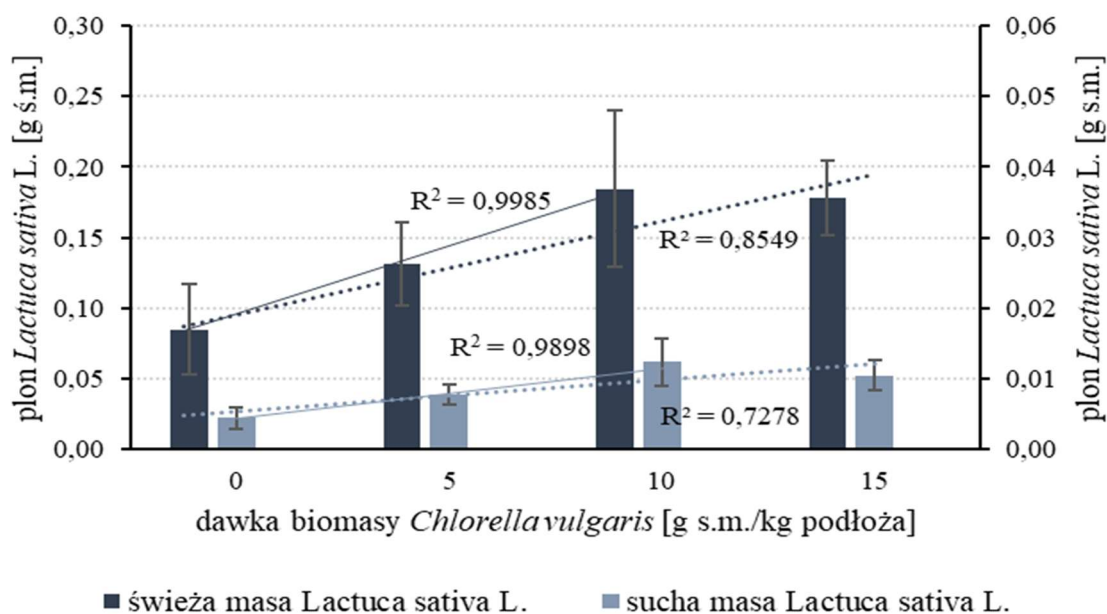
Świeża masa systemu korzeniowego w E2S1W2D0 wynosiła $0,019 \pm 0,008$ g ś.m. (Rys. 39). Dawka biomasy *C. vulgaris* w ilości 5 g s.m./kg spowodowała nieznaczny wzrost do $0,020 \pm 0,01$ g ś.m. (wzrost o 5%). W E2S1W2D10 odnotowano wzrostu plonu sałaty masłowej do wartości $0,019 \pm 0,005$ g ś.m., co nie różniło się od próby kontrolnej. Najwyższa dawka mikroglonów w wariancie E2S1W2D15 spowodowała wzrost świeżej masy korzeni do $0,023 \pm 0,007$ g ś.m., co stanowiło wzrost o 25% względem E2S1W2D0. Dla pełnego zakresu dawek współczynnik determinacji wyniósł $R^2 = 0,7311$, co świadczy o umiarkowanym dopasowaniu między sposobem nawożenia a uzyskiwanym plonem części podziemnej. Dla trzech najniższych dawek *C. vulgaris* zaobserwowano spadek wartości współczynnika determinacji R^2 do poziomu wynoszącego 0,7106.

W wariancie E2S1W2D0 ilość suchej masy korzeni wynosiła $0,003 \pm 0,0008$ g s.m. (Rys. 39). Dawka 5 g s.m./kg spowodowała wzrost plonu sałaty masłowej do wartości $0,006 \pm 0,001$ g s.m. (zwiększenie plonu o 50%). W E2S1W2D10 ilość suchej masy korzeni wynosiła

0,007±0,003 g s.m. zaś w E2S1W2D15 0,008±0,003 g s.m. Zwiększanie dawki biomasy mikroglonów nie wpłynęło istotnie ($p \leq 0,05$) na zwiększenie plonowania rośliny wskaźnikowej. Współczynnik determinacji dla zależności między dawką nawozu a suchą masą części podziemnej salaty masłowej w pełnym zakresie dawek (0,0-15,0 g s.m./kg podłoża) wyniósł 0,9119, co wskazuje na bardzo dobre dopasowanie modelu liniowego do danych. Ograniczenie analizy do trzech najniższych dawek (D0, D5 i D10) nie wpłynęło istotnie na wartość współczynnika, który w tym zakresie wyniósł $R^2 = 0,9303$, potwierdzając stabilność modelu przy niższych poziomach nawożenia.

JSC-1A

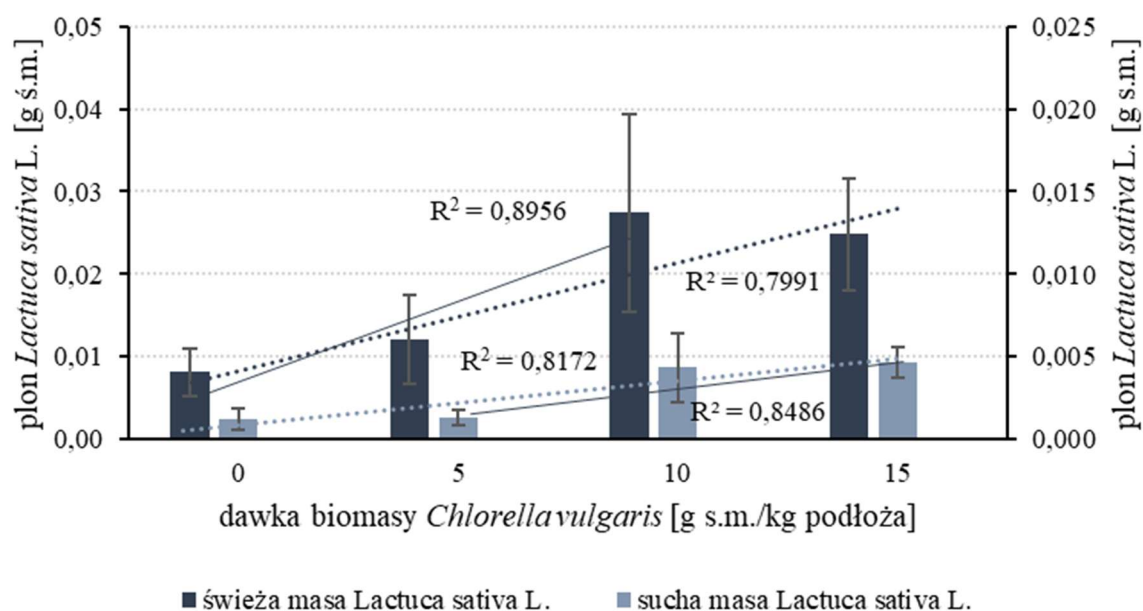
W E2S1W3 analizowano wzrost rośliny wskaźnikowej na symulancie regolitu księżycowego JSC-1A. W warunkach kontrolnych (D0) średni plon świeżej masy części nadziemnej wynosił 0,085±0,03 g ś.m (Rys. 40). Zastosowanie dawki nawozu w ilości 5 g s.m./kg podłoża spowodowało wzrost plonu do 0,131±0,02 g ś.m. (wzrost o 54%). W E2S1W3D10 odnotowano maksymalny plon na poziomie 0,185±0,05 g ś.m., co stanowi wzrost o 118% względem kontroli. Najwyższa dawka biomasy mikroglonów (15 g/kg) przyniosła nieznacznie niższy plon (0,178±0,02 g ś.m.), co stanowiło wzrost o 109% w stosunku do kontroli.



Rysunek 40 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W3).

Analiza współczynnika determinacji dla świeżej masy części nadziemnej sałaty masłowej wykazała wartość wynoszącą 0,8549 w przypadku uwzględnienia pełnego zakresu zastosowanych dawek biomasy mikrogulonów, co wskazuje na silną zależność pomiędzy ilością *C. vulgaris* a uzyskanym plonem rośliny wskaźnikowej. Natomiast ograniczenie analizy do zakresu dawek od 0,0 do 10 g s.m./kg podłoża spowodowało wzrost wartości $R^2 = 0,9985$, co świadczy o bardzo dobrym dopasowaniu dawki bionawozu do uzyskanego plonu sałaty masłowej w tym zakresie.

W odniesieniu do plonu sałaty wyrażonego przez suchą masę wartość w opcji bez nawożenia wynosiła $0,004 \pm 0,001$ g s.m. Pierwsza dawka nawozu spowodowała dwukrotny wzrost do $0,008 \pm 0,001$ g s.m. Maksymalną wartość odnotowano przy dawce 10 g s.m/kg podłoża - $0,012 \pm 0,003$ g s.m. (wzrost o 200% względem kontroli). W E2S1W3D15 zaobserwowano intensyfikację plonowania wynoszącą $0,011 \pm 0,002$ g s.m., co stanowiło wzrost o 175% w porównaniu z kontrolą. Współczynnik determinacji odnoszący się do suchej masy liści sałaty masłowej po ograniczeniu zakresu dawek do D0, D5 i D10 kształtował się na poziomie wynoszącym $R^2 = 0,9898$ przy czym dla pełnego zakresu jego wartość to $R^2 = 0,7278$ co wskazuje na istotne zwiększenie stopnia dopasowania modelu liniowego w niższym zakresie dawkowania.



Rysunek 41 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W3).

W pracy (Wamelink i in., 2014) analiza plonu suchej masy rzeżuchy (*Lepidium sativum* L.) uprawianej na symulancie regolitu księżycowego JSC-1A, wykorzystanym po raz pierwszy

jako podłoże, wykazała o 60% mniejszą ilość uzyskanej biomasy w porównaniu do roślin kontrolnych uprawianych w glebie ziemskiej. Podłoża nie były wzbogacane składnikami odżywczymi czy materią organiczną.

Zastosowane nawożenie testowanego podłoża wpłynęło korzystnie na rozwój systemu korzeniowego sałaty masłowej. W warunkach braku nawożenia 0 g s.m./kg podłoża, świeża masa korzeni wynosiła $0,008 \pm 0,002$ g s.m (Rys. 41). Zastosowanie dawki nawozu wynoszącej 5 g s.m./kg podłoża biomasy mikroglonów spowodowało wzrost plonu do $0,012 \pm 0,005$ g s.m. (wzrost o 50%). W E2S1W3D10 plon świeżej masy części podziemnej wyniósł $0,027 \pm 0,01$ g s.m., co stanowiło wzrost o 238%. Dawka 15 g s.m./kg podłoża przyczyniła się do wzrostu świeżej masy korzeni sałaty do ilości $0,025 \pm 0,006$ g s.m. (wzrost o 213% względem kontroli). Analiza suchej masy korzeni pozwoliła na odnotowanie wartości na poziomie $0,001 \pm 0,0006$ g s.m w próbie kontrolnej. Aplikacja biomasy mikroglonów w ilości 5 g s.m./kg podłoża nie spowodowała zmiany w plonowaniu ($0,001 \pm 0,0005$ s.m.). W E2S1W3D10 odnotowano wzrost masy korzeni do $0,004 \pm 0,002$ g s.m.. Najwyższa dawka *C. vulgaris* (15 g s.m./kg podłoża) przyniosła wzrost masy systemu korzeniowego sałaty do wartości $0,005 \pm 0,0009$ g s.m. (wzrost ponad 280%). Zarówno analiza świeżej, jak i suchej masy korzeni sałaty masłowej wykazała, że współczynnik determinacji obliczony dla wybranych dawek biomasy mikroglonów *Chlorella vulgaris* wskazał na lepsze dopasowanie modelu niż w przypadku uwzględnienia pełnego zakresu zastosowanych stężeń zielenic. W przypadku świeżej masy korzeni wartość współczynnika determinacji wynosiła $R^2 = 0,7991$ dla wszystkich dawek oraz $R^2 = 0,8956$ dla dawek D0, D5 i D10. Natomiast dla suchej masy korzeni wartości R^2 wyniosły odpowiednio 0,8172 (pełny zakres dawek) oraz 0,8486 dla dawek D5, D10 i D15. Wartości R^2 w obu przypadkach wskazały na dobre lub bardzo dobre dopasowanie modelu regresji do danych, co sugeruje istotny wpływ zastosowanych dawek mikroglonów na badane parametry wzrostu korzeni sałaty.

W badaniu (Paul i in., 2022) po raz pierwszy wyhodowali rośliny na prawdziwym regolicie księżycowym przywiezionym na Ziemię podczas misji Apollo 11, Apollo 12 oraz Apollo 17 (ANGSA 73001). Jako kontrolę zastosowano symulant regolitu księżycowego JSC-1A a rośliną kontrolną była rzeżucha (*Lepidium sativum*). Po ósmym dniu uprawy wzrost i rozwój części nadziemnych rzeżuchy w próbkach regolitu księżycowego uległy spowolnieniu i wykazywały większą zmienność w porównaniu z próbkami JSC-1A. Rośliny uprawiane na symulancie regolitu księżycowego utrzymywały wyższą i bardziej stabilną szybkość wzrostu niż te hodowane na jakiegokolwiek próbce prawdziwego regolitu księżycowego. Najsłabsze wyniki zaobserwowano w przypadku roślin uprawianych na regolicie z misji Apollo 11,

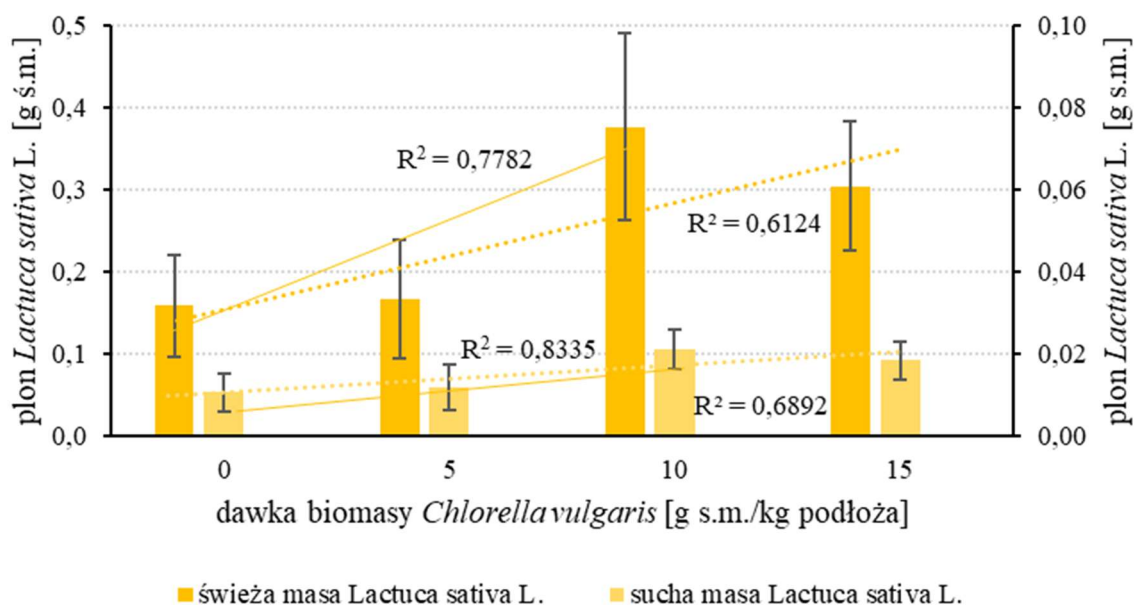
natomiast nieco lepsze efekty uzyskano w przypadku regolitu z misji Apollo 12 i 17 (Paul i in., 2022). Uzyskane wyniki wskazują, że symulanty regolitu księżycowego, mimo szerokiego zastosowania w badaniach laboratoryjnych, nie odzwierciedlają w pełni rzeczywistych właściwości regolitu księżycowego. Wzrost i rozwój roślin na autentycznym materiale księżycowym były ograniczone, co sugeruje jego wyższą toksyczność, niższą biodostępność składników odżywczych oraz potencjalnie niekorzystne oddziaływanie niektórych frakcji mineralnych w porównaniu do komercyjnie dostępnych symulantów, takich jak JSC-1A.

Próbka regolitu księżycowego, oznaczona jako ANGSA 73001, została pobrana podczas misji Apollo 17 w 1972 roku. Po powrocie na Ziemię, próbka ta była przechowywana przez 50 lat w warunkach próżniowych w NASA (Shearer i in., 2024). Decyzja o tak długim przechowywaniu wynikała z przewidywań, że przyszły rozwój technologii analitycznych umożliwi bardziej szczegółowe i precyzyjne badania, niż było to możliwe w latach siedemdziesiątych. W 2022 roku próbka ANGSA 73001 została otwarta w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych (Shearer i in., 2024). Proces ten przeprowadzono z użyciem specjalistycznego sprzętu opracowanego przez Europejską Agencję Kosmiczną (ESA), który pozwolił na ostrożne nakłucie pojemnika w warunkach próżniowych i kontrolowane przechwycenie uwolnionych gazów księżycowych (Shearer i in., 2024). Analiza tej próbki dostarcza unikalnych danych na temat składu chemicznego i mineralogicznego regolitu księżycowego, a także procesów geologicznych zachodzących na Księżycu. Dzięki zaawansowanym technikom analitycznym, takim jak spektrometria mas czy mikroskopia elektronowa, naukowcy są w stanie uzyskać informacje niedostępne w momencie pobrania próbki. Badania te mają kluczowe znaczenie dla planowania przyszłych misji księżycowych oraz zrozumienia historii geologicznej naszego naturalnego satelity (Gross i in., 2022).

JSC-1A bez frakcji ferromagnetycznej

W E2S1W4 wykorzystano także symulant regolitu księżycowego JSC-1A jednakże pozbawionego frakcji ferromagnetycznej. Fotografie aglutynatów wykonane za pomocą techniki mikroskopii elektronowej bądź optycznej ujawniają, iż próbki zawierały czyste, nanofazowe żelazo (Wang i in., 2017). Żelazo nanofazowe (ang. nanophase iron, np-Fe⁰) to forma żelaza występująca w postaci bardzo drobnych, nanometrycznych cząstek metalicznego Fe⁰. (Taylor i in., 2005) w swojej pracy sugerują, że zastosowanie ręcznych magnesów może być prostym i tanim sposobem na usunięcie problematycznej frakcji pyłu i aglutynatów. Proponują tę metodę przed kolejnymi etapami wzbogacania regolitu (Taylor i in., 2005). W

badaniach własnych w procesie magnetycznej separacji symulanta regolitu księżycowego JSC-1A odzyskano 20,5% frakcji ferromagnetycznej. Wartość ta jest wyższa niż zawartość frakcji ferromagnetycznej w tym symulancie, ponieważ podczas ręcznego rozdzielania związków żelaza usunięto również cząstki niemagnetyczne. Wynika to z m.in. dużej frakcji pylistej w próbce (oddziaływania elektrostatyczne) (Schwan i in., 2017). Żelazo nanofazowe występuje głównie jako cienkie powłoki na ziarnach regolitu, a nie jako samodzielne cząstki, co może ograniczać efektywność separacji przy użyciu tradycyjnych metod magnetycznych.

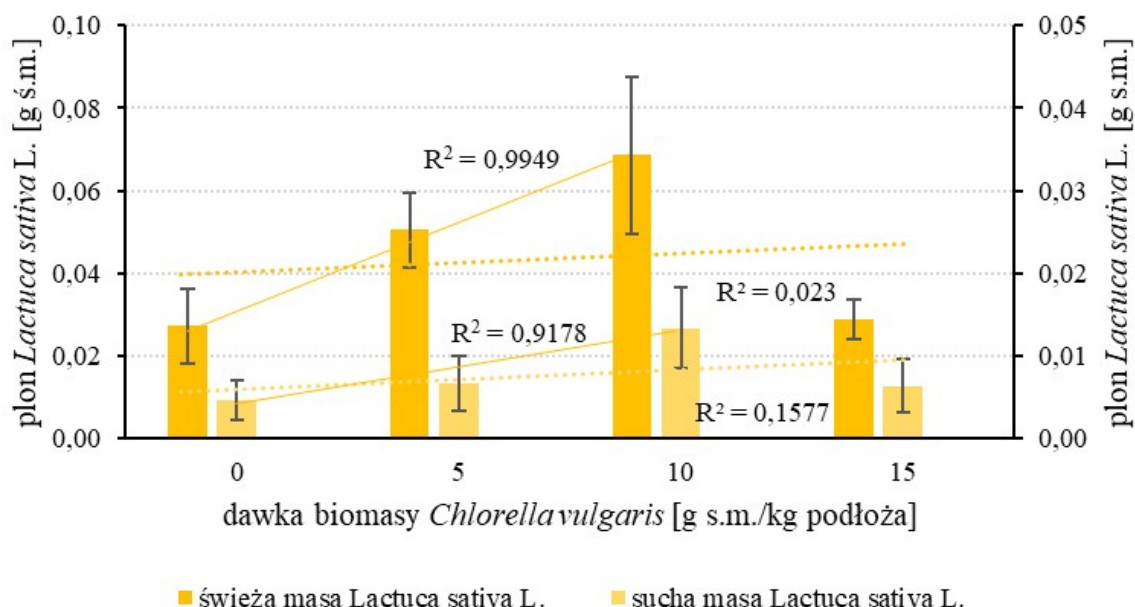


Rysunek 42 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W4).

Cząstki nanofazowego żelaza mogą być również uwięzione w ziarnach przez szkliwo impaktowe (Kaczmarzyk, 2024), co utrudnia ich skuteczne oddzielenie za pomocą magnesu. Dodatkowo, w niektórych przypadkach, nanocząstki mogą być zbyt małe, aby skutecznie reagować na pole magnetyczne, co również wpływa na ograniczoną efektywność procesu separacji. Z tych powodów, pomimo prostoty i niskich kosztów proponowanej metody, może być konieczne zastosowanie dodatkowych technik w celu poprawy wydajności procesu odzyskiwania żelaza z aglutynatów.

Uzyskana w E2S1W4D0 świeża masa części nadziemnej charakteryzowała się wartością wynoszącą $0,1579 \pm 0,06$ g s.m. (Rys. 42). Zastosowanie biomasy mikroglonów w ilości 5 g s.m./kg podłoża spowodowało nieznaczny wzrost do $0,16612 \pm 0,07$ g s.m. (wzrost o 5% względem próby kontrolnej). W E2S1W4D10 odnotowano wzrost plonu do $0,37584 \pm 0,11$

g ś.m., co stanowiło wzrost o 138%. Najwyższa dawka *C. vulgaris* (15 g s.m./kg podłoża) skutkowała uzyskaniem plonu rośliny wskaźnikowej na poziomie $0,3039 \pm 0,07$ g ś.m., co stanowiło wzrost o 93% względem kontroli. Sucha masa części nadziemnej w opcji bez nawożenia kształtowała się na poziomie $0,010 \pm 0,004$ g s.m. W E2S1W4D5 zaobserwowano niewielki wzrost plonu sałaty masłowej do $0,012 \pm 0,005$ g s.m. (wzrost o 20%).



Rysunek 43 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W4).

Maksymalną wartość odnotowano przy dawce 10 g s.m./kg podłoża - $0,021 \pm 0,004$ g s.m., co stanowiło wzrost o 110% względem próby referencyjnej. Dawka 15 g s.m./kg podłoża spowodowała wzrost sałaty na poziomie $0,018 \pm 0,004$ g s.m. (wzrost o 80% względem kontroli).

Analiza współczynnika determinacji w przypadku świeżej masy części nadziemnej, przy uwzględnieniu pełnego zakresu dawek bionawozu wykazała umiarkowane dopasowanie ($R^2 = 0,6124$), natomiast ograniczenie analizy do niższego zakresu dawek (D0-D10) pozwoliło na zwiększenie współczynnika determinacji do $R^2 = 0,7782$, wskazując na lepsze dopasowanie modelu i silniejszy związek przy mniejszych dawkach biomasy. Podobna tendencja została zaobserwowana dla suchej masy części nadziemnej- analiza obejmująca wszystkie dawki wykazała $R^2 = 0,6892$, natomiast wyższy poziom dopasowania ($R^2 = 0,8335$) uzyskano analizując dawki D0, D5 i D10.

W próbie kontrolnej świeża masa części podziemnej rośliny kontrolnej wynosiła $0,027 \pm 0,01$ g ś.m (Rys. 43). W E2S1W4D5 zaobserwowano wzrost plonu sałaty masłowej do wartości $0,050 \pm 0,03$ g ś.m. (wzrost o 85%). Maksymalną wartość odnotowano przy dawce 10

g s.m./kg podłoża, dzięki której sałata charakteryzowała się świeżą masą korzeni wynoszącą $0,069 \pm 0,02$ g s.m. o stanowiło wzrost o 156% w odniesieniu do próby referencyjnej. W E2S1W4D15 zaobserwowano spadek plonowania do wartości $0,029 \pm 0,004$ g s.m., co stanowiło jedynie 7% wzrost względem kontroli. Analizując suchą masę części podziemnej w D0 wartość plonu sałaty masłowej wynosiła $0,005 \pm 0,002$ g s.m. W E2S1W4D5 ilość uzyskanej biomasy rośliny kontrolnej wzrosła do wartości $0,007 \pm 0,003$ g s.m. co odpowiada wzrostowi o 40% względem próby referencyjnej. Podczas aplikacji mikroglonów w ilości 10 g s.m./kg podłoża odnotowano maksymalną wartość $0,013 \pm 0,004$ g s.m. (wzrost o 160% względem kontroli). Najwyższa dawka *C. vulgaris* D15 skutkowała spadkiem plonu do $0,006 \pm 0,003$ g s.m., co stanowiło jedynie 20% wzrost względem kontroli. Dla świeżej masy korzeni, pełny zakres dawek bionawozu nie wykazywał istotnej zależności ($R^2 = 0,023$), natomiast analiza ograniczona do trzech pierwszych dawek wykazała wysoką wartość współczynnika determinacji ($R^2 = 0,9949$), co sugeruje idealną zależność liniową w niższym zakresie nawożenia. Podobnie, w przypadku suchej masy części podziemnej, pełny zakres dawek wykazał słabe dopasowanie wartości $R^2 = 0,1577$, podczas gdy ograniczenie do dawek D0-D10 pozwoliło na znaczne zwiększenie R^2 do poziomu 0,9178, co wskazuje na wyraźną poprawę jakości dopasowania współczynnika determinacji w odniesieniu do niższych stężeń zastosowanej biomasy mikroglonów.

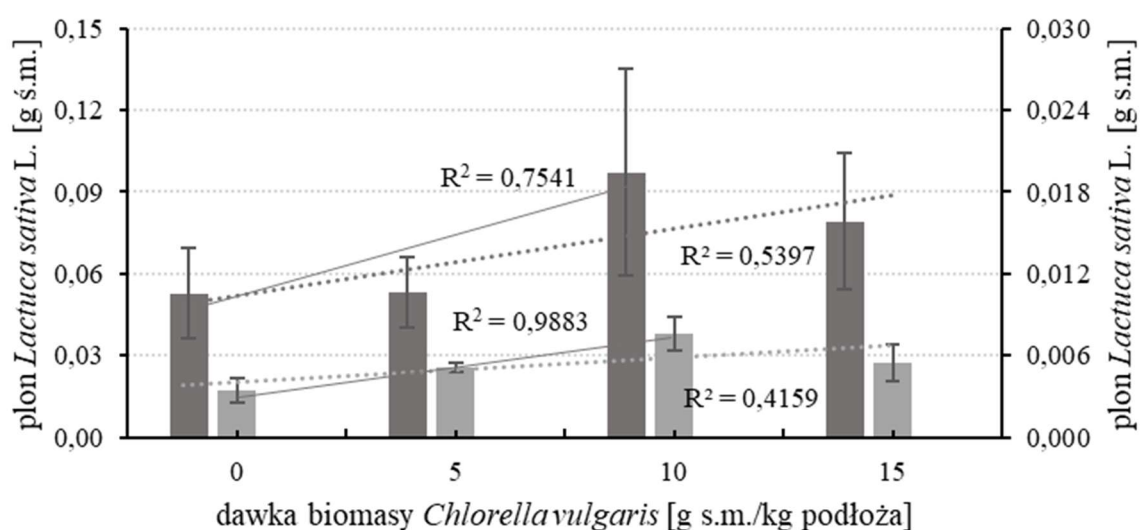
Średnia wielkość plonu suchej masy uzyskanego w E2S1W4 wykazała różnicę w stosunku do średniej ilości biomasy wyprodukowanej na substracie w serii E2S1W3. Średnia ilość biomasy uzyskanej w serii E2S1W4D0 była o 85% większa od ilości świeżej masy sałaty zebranej w E2S1W3D0. Przeprowadzona magnetyczna separacja frakcji ferromagnetycznych z symulanta regolitu księżycowego przyczyniła się do poprawy plonowania rośliny wskaźnikowej, co można tłumaczyć kilkoma współistniejącymi mechanizmami fizykochemicznymi. Jednym z kluczowych czynników jest usunięcie znacznej części aglutynatów, które stanowią nieregularne, szkliste struktury powstałe w wyniku uderzeń meteorytów (Kaczmarzyk, 2024). Aglutynaty, zbudowane z fragmentów mineralnych spojonych zeszkłą matrycą, często zawierają ostrokrawędziste ziarna, które mogą mechanicznie uszkadzać włósniki korzeniowe (Kaczmarzyk, 2024). Takie uszkodzenia ograniczają powierzchnię aktywnej absorpcji wody i składników mineralnych, prowadząc do zaburzeń w rozwoju systemu korzeniowego i pogorszenia ogólnej kondycji roślin (Paul i in., 2022). Ponadto, aglutynaty są bogate w nanofazowe żelazo ($np\text{-Fe}^0$), występujące głównie jako cienkie powłoki na ziarnach regolitu lub uwięzione w szklistych frakcjach (Kaczmarzyk, 2024; Paul i in., 2022). Chociaż w niewielkich ilościach żelazo stanowi niezbędny mikroelement, jego

nadmiar - zwłaszcza w formie reaktywnych nanocząstek - może generować stres oksydacyjny w ryzosferze, powodując zaburzenia metaboliczne u roślin (Harish i in., 2023). Obecność tych frakcji może również zaburzać stosunki jonowe w podłożu (np. Fe:Mn, Fe:Zn), ograniczając biodostępność innych kluczowych mikroelementów. Magnetyczna separacja pozwala na fizyczne usunięcie tych frakcji, co prowadzi do poprawy struktury fizycznej podłoża, zwiększenia porowatości i ułatwienia penetracji korzeni. Jednocześnie usunięcie cząstek o właściwościach ferromagnetycznych zmniejsza zawartość reaktywnych form żelaza i ogranicza obecność ostrych, szklanych fragmentów, tworząc bardziej sprzyjające środowisko dla wzrostu roślin.

AGK-2010

W E2S1W5 wykorzystano jako podłoże symulant regolitu księżycowego AGK-2010. Analiza plonu świeżej masy rośliny wskaźnikowej wykazała zróżnicowanie między poszczególnymi dawkami biomasy mikroglonów. W warunkach kontrolnych (D0), bez zastosowania nawozu, średnia masa wyniosła $0,053 \pm 0,01$ g ś.m., co wskazuje na ograniczony wzrost roślin w tych warunkach (Rys. 44). Zastosowanie pierwszej dawki bionawozu (5 g s.m./kg podłoża) nie przyniosło poprawy plonowania ($0,053 \pm 0,01$ g ś.m.).

Dopiero dawka D10 spowodowała niemal dwukrotny wzrost plonu do $0,097 \pm 0,03$ g ś.m. Dalsza intensyfikacja nawożenia do 15 g s.m./kg podłoża nie wpłynęła na dalszy wzrost plonu rośliny wskaźnikowej, osiągając wartość $0,079 \pm 0,02$ g.

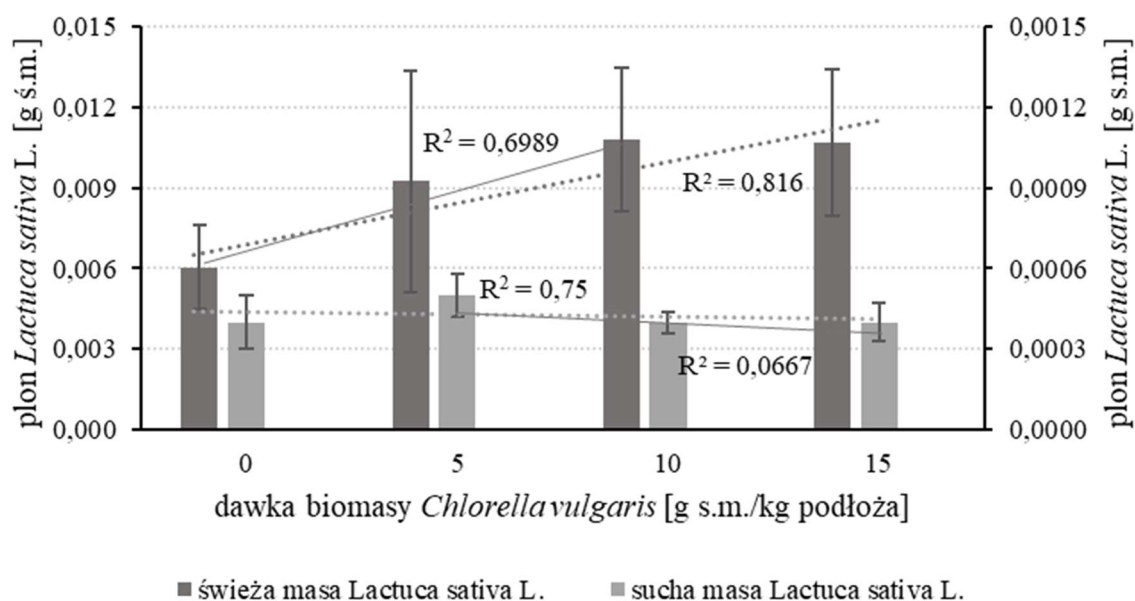


Rysunek 44 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W5).

W odniesieniu do suchej masy sałaty masłowej, w próbie kontrolnej D0 uzyskano wartość plonu na poziomie wynoszącym $0,003 \pm 0,001$ g s.m. w D5 zaobserwowano wzrost biomasy rośliny wskaźnikowej do $0,005 \pm 0,001$ g s.m.

Najlepszy efekt odnotowano w opcji E2S1W5D10, gdzie sucha masa osiągnęła $0,008 \pm 0,002$ g s.m., co stanowiło niemal trzykrotność wartości, którą osiągnięto bez nawożenia mikroglonami. W przypadku najwyższej dawki (15 g s.m./kg podłoża) nie zaobserwowano intensyfikacji plonowania sałaty masłowej. Ilość otrzymanej biomasy rośliny wynosiła $0,005 \pm 0,003$ g s.m.

W warunkach kontrolnych świeża masa części podziemnej wynosiła $0,006 \pm 0,001$ g śm. (Rys. 45). W E2S1W5D5 zaobserwowano wzrost o 50% masy korzeni do $0,009 \pm 0,004$ g śm. Przy dawce mikroglonów D10 oraz D15 ilość biomasy sałaty masłowej wyniosła $0,011 \pm 0,002$ g śm. Analiza suchej masy części podziemnej rośliny wskaźnikowej w opcji kontrolnej (D0) pozwoliła na uzyskanie plonu wynoszącego $0,0004 \pm 0,0001$ g s.m. Dawka 5 g s.m/kg podłoża spowodowała wzrost do $0,0005 \pm 0,00008$ g s.m. Dalsze zwiększanie dawki nie wpłynęło na intensyfikację plonowania.



Rysunek 45 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W5).

Plon sałaty masłowej otrzymany w E2S1W5 był najmniejszy ze wszystkich wykorzystanych podłoży. Należy zauważyć, że symulant ten został stworzony na potrzeby testowania różnych urządzeń i technologii, które mają potencjalne zastosowanie na

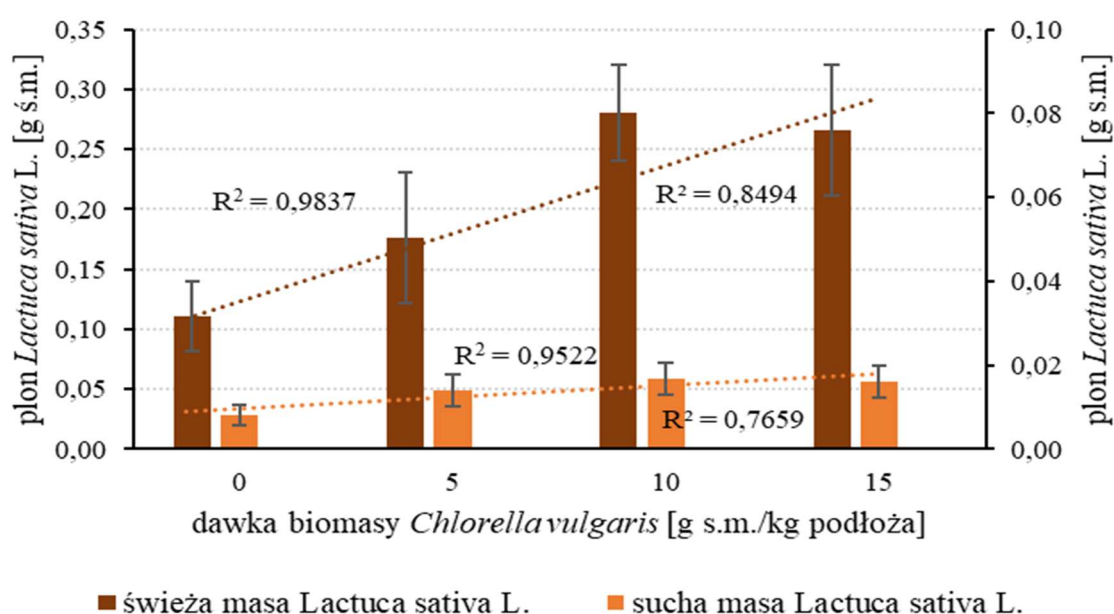
powierzchni Księżyca lub Marsa, szczególnie w kontekście misji kosmicznych, budowy habitatów oraz pozyskiwania zasobów. AGK2010 był wykorzystywany do testowania technologii wydobywania regolitu z powierzchni ciał niebieskich. Urządzenia te miały na celu przetwarzanie regolitu na materiały budowlane lub surowce niezbędne do dalszych procesów, takich jak produkcja tlenu czy wody. Testowano różne metody, w tym maszyny skrawające, wiertnice oraz systemy do transportu materiału (Seweryn i in., 2014, 2019). Do tej pory ten symulant regolitu księżycowego nie był wykorzystywany rolniczo.

MMS-1

W E2S1W6 podłoże stanowił symulant regolitu marsjańskiego MMS-1. Analizowany średni plon w próbie bez nawożenia wynosił $0,0983 \pm 0,02$ g ś.m. (Rys. 46). Zastosowanie dawki nawozu D5 spowodowało wzrost plonu części nadziemnej sałaty do $0,1764 \pm 0,05$ g ś.m., który stanowił wzrost o 80% względem D0. W E2S1W6D10 odnotowano najwyższy plon, który wyniósł $0,1934 \pm 0,04$ g ś.m. (wzrost o 97% względem kontroli). Najwyższa dawka biomasy mikroglonów (15 g s.m./kg podłoża) nie spowodowała wzrostu masy plonu, który kształtowała się na poziomie $0,1456 \pm 0,05$ g ś.m., co stanowiło wzrost o 48% w stosunku do próby kontrolnej. Wyniki dotyczące suchej masy części nadziemnej w warunkach kontrolnych (E2S1W6D0) charakteryzowały się wartością plonu, która wynosiła $0,008 \pm 0,002$ g s.m. Dawka D5 spowodowała wzrost sałaty $0,014 \pm 0,003$ g s.m. co stanowiło wzrost o 75% względem E2S1W6D0. Maksymalną wartość odnotowano przy dawce 10 g s.m./kg podłoża - $0,017 \pm 0,003$ g s.m. (wzrost o 112,5% w porównaniu do próby kontrolnej). W E2S1W6D15 uzyskano plon rośliny wskaźnikowej na poziomie $0,016 \pm 0,003$ g s.m., co stanowiło wzrost o 100% w porównaniu z kontrolą. Wskaźnik współczynnika determinacji wyznaczony dla świeżej masy części nadziemnej przy pełnym zakresie dawek charakteryzował się wysokim poziomem dopasowania ($R^2 = 0,8494$). Natomiast ograniczenie analizy do trzech najniższych skutkowało wzrostem wartości współczynnika determinacji do poziomu wynoszącego 0,9837, wskazując na silny związek pomiędzy zastosowaną dawką *C. vulgaris* a plonowaniem sałaty masłowej na symulancie regolitu marsjańskiego MMS-1. Zbliżoną tendencję zaobserwowano dla suchej masy części nadziemnej. Ujęcie wszystkich poziomów nawożenia skutkowało umiarkowanym dopasowaniem modelu ($R^2 = 0,7659$), natomiast pierwszych trzech dawek wykazało bardzo dobre dopasowanie ($R^2 = 0,9522$).

W badaniu (Wamelink i Pouwels, 2024) wykorzystano symulant regolitu księżycowego JSC-1A oraz symulant regolitu marsjańskiego MMS-1. Jako źródło pierwiastków biogennych zastosowano struwit na bazie uryny ($MgNH_4PO_4$). Dodatkowo dodano 10% (objętościowo)

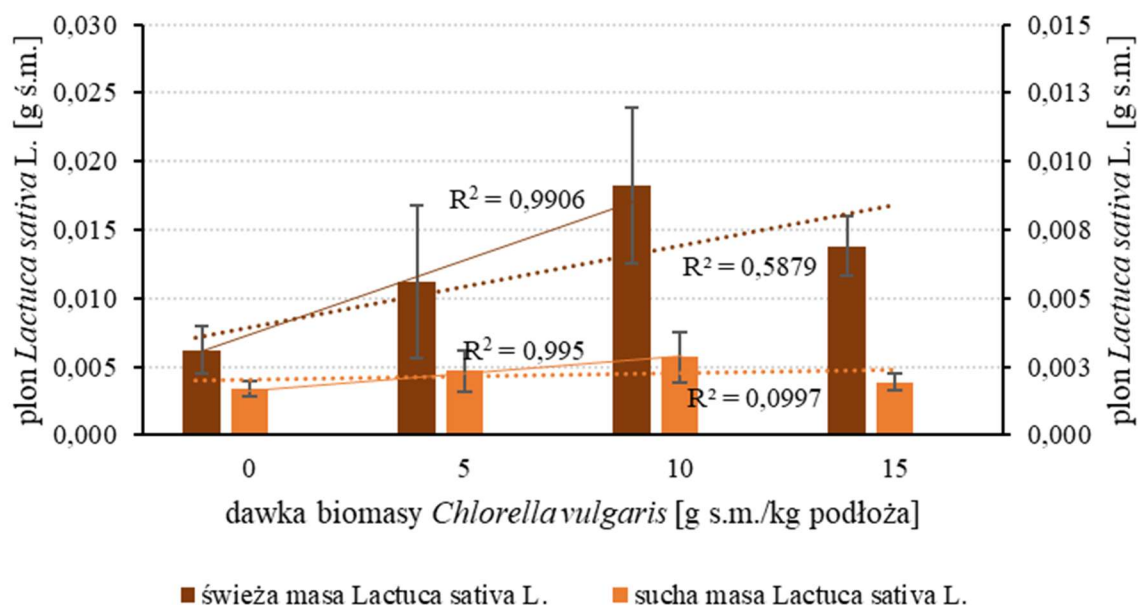
materii organicznej. Jako podłoże kontrolne wykorzystano ziemię doniczkową. Plon fasoli szparagowej (*Phaseolus vulgaris*) otrzymany na podłożu MMS-1w wariantcie bez nawożenia wynosił 2,5 g ś.m. Symulant regolitu marsjańskiego po wykonaniu zabiegu nawożenia charakteryzował się plonem, który wyniósł 32 g ś.m., co przekłada się na 128% wzrost biomasy rośliny wskaźnikowej. W odniesieniu do badań własnych, dodatek mikrogulonów spowodował maksymalnie 112,5% wzrost świeżej masy liści w E2S1W6. Plon z MMS-1 bez dodatku struwitu okazał się większy o 25% od ilości świeżej masy fasoli szparagowej uzyskanej na ziemi ogrodowej. Podobne zależności wykazuje analiza suchej masy rośliny wskaźnikowej (Wamelink i Pouwels, 2024). W badaniach własnych to plon sałaty na ziemi ogrodowej (0,63 g ś.) był większy o ponad 470% w porównaniu do MMS-1 (0,110 g ś.m.).



Rysunek 46 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosowanej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W6).

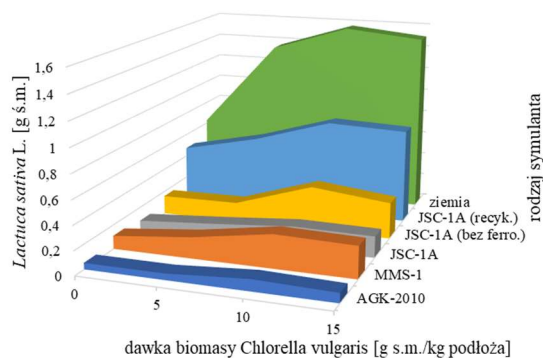
Część podziemna wykazała w próbie kontrolnej wzrost świeżej masy korzeni na poziomie $0,006 \pm 0,001$ g ś.m. (Rys. 47). W opcji D5 odnotowano wzrost świeżej masy sałaty masłowej do wartości $0,011 \pm 0,005$ g śm. Był to wzrost o 83% względem D0. Największy wzrost masy części podziemnej sałaty zaobserwowano przy dawce 10 g s.m./kg podłoża - $0,018 \pm 0,005$ g ś.m. co stanowiło wzrost o 200%. W E2S1W6D15 masa korzeni kształtowała się na poziomie $0,014 \pm 0,002$ g ś.m. (wzrost o 133% względem kontroli. W odniesieniu do korzeni sałaty masłowej, zależność świeżej masy plonu od dawki bionawozu również wykazywała lepsze dopasowanie modelu regresji przy analizie trzech pierwszych dawek ($R^2 = 0,9906$) w porównaniu do pełnego zestawu danych ($R^2 = 0,5879$). Tak wysoka wartość R^2 dla ograniczonego zakresu wskazuje na bardzo silną zależność między dawką bionawozu a świeżą

masą korzeni, podczas gdy niższe dopasowanie dla pełnego zakresu może świadczyć o nieliniowym charakterze odpowiedzi roślin na wyższe dawki biomasy mikroglonów.

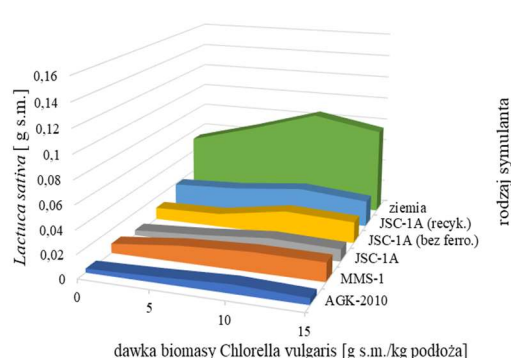


Rysunek 47 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *C. vulgaris* (E2S1W6).

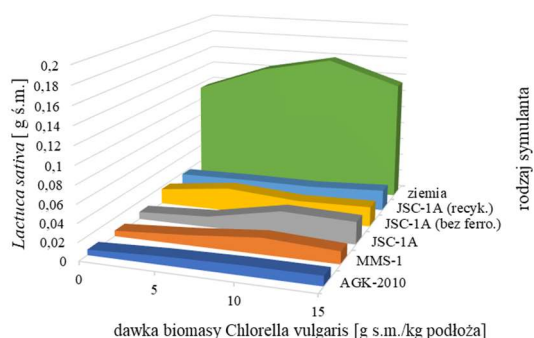
Analiza suchej masy korzeni wykazała, iż w próbie kontrolnej wartość suchej masy korzeni wynosiła $0,002 \pm 0,0002$ g s.m. W D5 nie zaobserwowano zmiany ($0,002 \pm 0,0007$ g s.m.). Przy zastosowaniu biomasy *C. vulgaris* w ilości 10 g s.m./kg podłoża odnotowano wzrost do $0,003 \pm 0,0009$ g s.m. co stanowiło wzrost o 50% względem kontroli. Aplikacja dawki 15 g s.m./kg podłoża nie spowodowała zwiększenia plonu sałaty masłowej w odniesieniu do opis bez nawożenia. Odnosząc się do suchej masy części podziemnej, pełen zakres dawek wykazywał całkowity brak korelacji ($R^2 = 0,0997$), natomiast ograniczenie analizy do D0, D5 i D10 wykazało bardzo dobre dopasowanie dawki bionawozu o czym świadczy wysoka wartość współczynnika determinacji wynosząca $R^2 = 0,995$.



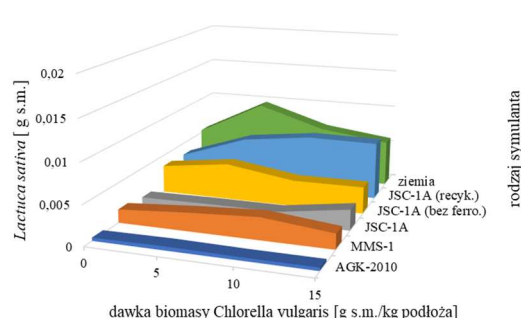
Rysunek 50 Zależność akumulacji świeżej biomasy części nadziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia.



Rysunek 48 Zależność akumulacji suchej biomasy części nadziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia.



Rysunek 51 Zależność akumulacji świeżej biomasy części podziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia.



Rysunek 49 Zależność akumulacji suchej biomasy części podziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia.

Warto zauważyć, że ta tendencja dodatku mikroglonów na plonowanie sałaty utrzymywała się w prawie wszystkich testowanych podłożach i we wszystkich analizowanych parametrach (Rys. 48), (Rys. 49), (Rys. 50), (Rys. 51). Analiza różnorodnych podłoży wykazała podobne wzorce odpowiedzi na aplikację *C. vulgaris*. W każdym z tych przypadków obserwowano wzrost średniej wartości plonu w odpowiedzi na zastosowanie mikroglonów jako dodatku glebowego w porównaniu z kontrolą, przy czym większe dawki zazwyczaj skutkowały większymi wzrostami średnich wartości plonu. Badania przeprowadzone przez grupę naukowców (Sido i in., 2022) wykazały, że dodatek biomasy mikroglonów z gatunku *C. vulgaris* wykazuje istotne działanie stymulujące wzrost roślin. Badania zostały przeprowadzone w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych, uwzględniając różne parametry wzrostu pszenicy (*Triticum aestivum* L.), wykazały, że wzbogacanie podłoża żywymi mikroglonami spowodowało największy wzrost świeżej masy pędów o 167% oraz 126% w porównaniu z próbą kontrolną. Dodatkowo, obserwowano istotny wzrost suchej masy korzeni o 189% i 77% w przypadku stosowania dodatku biomasy mikroglonów. Wyniki sugerują, że *C. vulgaris* może być skutecznym środkiem stymulującym wzrost roślin.

Jak pokazują badania (La Bella i in., 2021) nie tylko aplikacja mikrogulonów w podłoże wpływa na zwiększenie plonowania. W eksperymencie wykorzystano *C. vulgaris* do przygotowania ekstraktu poprzez lizę komórek wykorzystując metanol (99,9%) v/v). Wyniki wskazały, że oprysk z ekstraktu korzystnie oddziałował na wzrost siewek sałaty, prowadząc do zwiększenia świeżej i suchej masy pędów. Ponadto, na poziomie korzeni obserwowano także wzrost zawartości suchej masy po podaniu ekstraktu. Analizy eksperymentu przeprowadzonego przez (Tian i in., 2022) nad wykorzystaniem mikrogulonów *C. vulgaris* do wspomagania wzrostu roślin papryki (*Capsicum annuum*) także wykazały pozytywne rezultaty. Naukowcy aplikowali mikrogulony także w postaci ekstraktu przygotowanego za pomocą metanolu. Wyniki analiz wskazały na istotne zwiększenie wysokości roślin papryki (opryskiwane: $32,2 \pm 0,3$ cm; kontrola: $24,2 \pm 0,2$ cm), średnicy łodygi (opryskiwane: $0,57 \pm 0,02$ cm; kontrola: $0,41 \pm 0,03$ cm) oraz powierzchni liścia (opryskiwane: $189,6 \pm 3,2$ cm²; kontrola: $145,8 \pm 2,5$ cm²). Szczególnie rośliny papryki poddane traktowaniu ekstraktem z *C. vulgaris* wykazywały lepsze rozwinięcie systemu korzeniowego oraz istotne zwiększenie zawartości chlorofilu a.

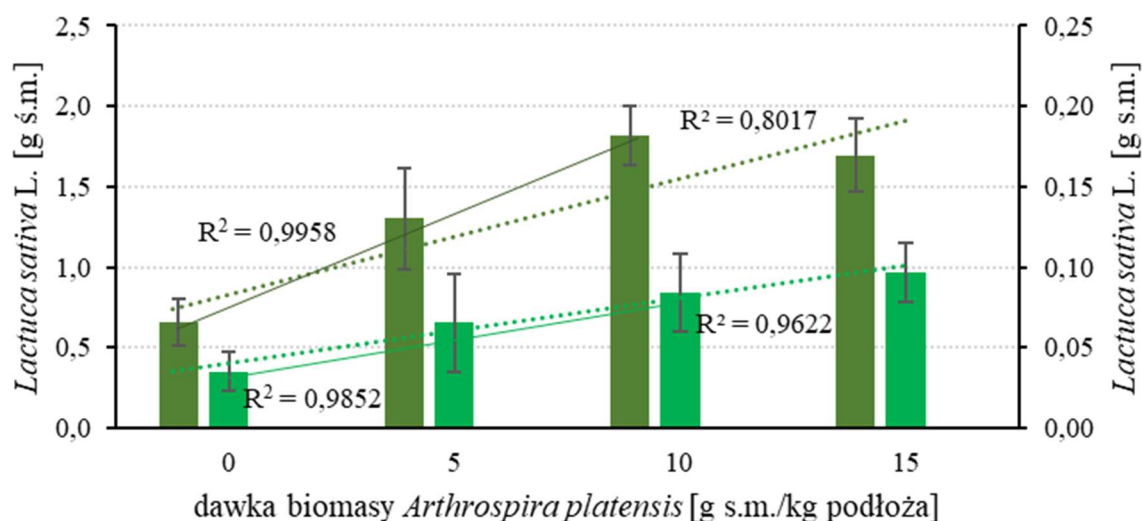
6.2.2. Nawożenie biomasą *A. platensis*

Ziemia ogrodowa

W E2S2, stosowanym materiałem nawozowym była biomasa *A. platensis*. E2S1W1 był wariantem kontrolnym, w którym stosowano ziemię ogrodową. W opcji bez stosowania nawożenia (E2S2W1D0) plon części nadziemnej sałaty masłowej (*Lactuca sativa* L.) wyniósł $0,659 \pm 0,142$ g ś.m.

Zastosowanie opcji nawożenia D5 spowodowało wzrost plonowania do poziomu $1,304 \pm 0,314$ g ś.m., co stanowiło przyrost o 98% względem E2S2W1D0 (Rys. 52). Najwyższy plon świeżej masy liści odnotowano przy dawce 10 g s.m./kg (D10), który wyniósł $1,82 \pm 0,184$ g ś.m. i przekładał się na istotny ($p \leq 0,05$) wzrost o 176% w stosunku do D0. W E2S2W1D15 świeża masa części nadziemnej kształtowała się na poziomie $1,693 \pm 0,227$ g ś.m., co wskazywało także na istotny ($p \leq 0,05$) wzrost plonu o 156% względem kontroli.

Analiza suchej masy części nadziemnej rośliny wskaźnikowej wykazała, iż w próbie bez nawożenia (E2S2W1D0) uzyskano wartość $0,063 \pm 0,013$ g s.m. Dawka D5 nie wpłynęła istotnie na zmianę tego parametru ($0,065 \pm 0,030$ g s.m.; wzrost o 85%). Zastosowanie dawki D10 przyniosło istotny ($p \leq 0,05$) przyrost suchej masy do $0,084 \pm 0,024$ g s.m., co stanowiło wzrost o 139% względem E2S2W1D0. Najwyższą istotną ($p \leq 0,05$) wartość uzyskano jednak przy D15 - $0,096 \pm 0,018$ g s.m., co odpowiada wzrostowi o 173% względem D0.



Rysunek 52 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej *A. platensis* (E2S2W1).

Współczynnik determinacji w przypadku świeżej masy części nadziemnej roślin, dla wszystkich zastosowanych dawek wynosił $R^2 = 0,8017$, natomiast po ograniczeniu analizy do trzech pierwszych dawek (najniższych) uzyskano znacznie lepsze dopasowanie, gdzie wartość współczynnika wyniosła 0,9958. Analogiczny trend zaobserwowano w przypadku suchej masy części nadziemnej, gdzie R^2 dla wszystkich dawek wynosił 0,9622, a dla trzech pierwszych - 0,9852, co wskazuje na bardzo dobre dopasowanie dawki bionawozu.

Wpływ biomasy sinic na poprawę plonowania poprzez nawożenie podłoża był również przedmiotem badań innych autorów. Przykładem jest praca zespołu badawczego z Tajlandii (Chittapun i in., 2018), w której oceniano zastosowanie szczepów *Nostoc carneum* TUBT04 oraz *Nostoc commune* TUBT05 w uprawie ryżu (*Oryza* L.). W wariacie nawożenia 1% (m/m) biomasą *N. carneum* (12 g s.m. na 12 kg podłoża) uzyskano świeżą masę części nadziemnych ryżu na poziomie $0,326 \pm 0,034$ g s.m., co stanowiło wzrost o 19% względem kontroli bez nawożenia ($0,275 \pm 0,061$ g s.m.). Podobny efekt zaobserwowano przy zastosowaniu 1% biomasy *N. commune*, gdzie plon wyniósł $0,330 \pm 0,039$ g s.m., czyli o 20% więcej niż w kontroli. W przypadku zastosowania mieszaniny obu szczepów (po 6 g s.m. *N. carneum* i *N. commune* na 12 kg podłoża), odpowiadającej również 1% udziałowi masowemu nawozu,

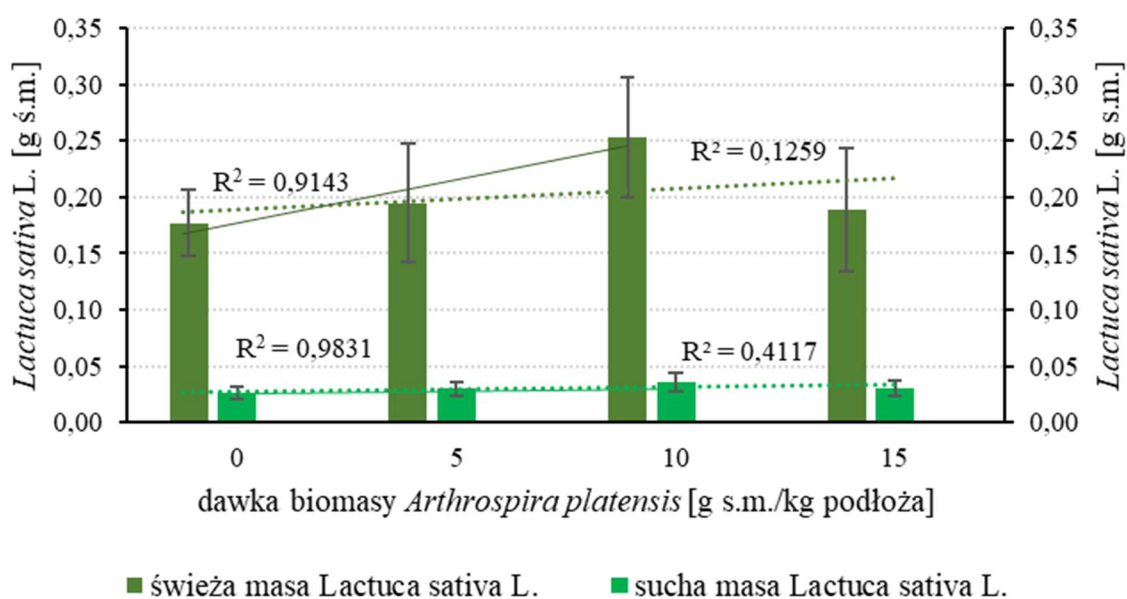
uzyskano plon $0,281 \pm 0,033$ g ś.m., co odpowiadało wzrostowi o 2% względem próby kontrolnej. Wyniki wyrażone jako sucha masa części nadziemnych również potwierdziły skuteczność bionawozu z biomasy sinic. W wariancie 1 sucha masa osiągnęła $0,042 \pm 0,007$ g s.m, co stanowiło 20% wzrost względem kontroli ($0,035 \pm 0,010$ g s.m.). Zarówno w wariancie 2, jak i 3 uzyskano identyczne wartości suchej masy ($0,038 \pm 0,006$ g s.m.), co odpowiadało wzrostowi o 9% w porównaniu z próbą bez nawożenia. W badaniach dokonano również porównania z nawożeniem mineralnym. Żaden z wariantów z użyciem biomasy sinic nie osiągnął tak wysokich plonów jak te uzyskane po zastosowaniu nawozu mineralnego NKP (16-20-0) w dawkach 2 g/kg i 1 g/kg podłoża, gdzie świeża masa wyniosła odpowiednio $0,364 \pm 0,043$ g ś.m. oraz $0,280 \pm 0,029$ g ś.m. Jednakże częściowe zastąpienie nawożenia mineralnego biomasą sinic również przyniosło zadowalające efekty. W wariancie, w którym zastosowano 1 g nawozu mineralnego/kg podłoża oraz 1% *N. carneum*, uzyskano świeżą masę $0,330 \pm 0,070$ g ś.m., co oznaczało 9% wzrost względem pełnej dawki nawozu. Natomiast w wariancie, obejmującym kombinację nawozu chemicznego z 1% *N. commune*, plon wyniósł $0,311 \pm 0,027$ g ś.m., co stanowiło wzrost o 15% względem opcji z pełnym nawożeniem mineralnym (Chittapun i in., 2018).

Przedstawione powyżej wyniki wskazują, że choć pełne zastąpienie nawożenia chemicznego biomasą sinic może nie zapewnić porównywalnego plonowania, to ich częściowe zastąpienie pozwala uzyskać wysokie efekty produkcyjne biomasy uprawianych roślin przy jednoczesnym ograniczeniu zużycia nawozów mineralnych. Potwierdza to zasadność dalszych badań nad możliwością integrowania biomasy mikroorganizmów w systemach rolniczych.

Zastosowanie biomasy sinic w przeprowadzonym doświadczeniu skutkowało aż 176% wzrostem świeżej masy roślin, co jest istotnie wyższym wynikiem w porównaniu do 20% przyrostu odnotowanego w przytoczonym badaniu.

W przypadku świeżej masy części podziemnej sałaty masłowej, w kontroli (D0) uzyskano wartość $0,177 \pm 0,029$ g ś.m (Rys. 53). Dawka D5 spowodowała niewielki przyrost korzeni do wartości $0,195 \pm 0,053$ g ś.m. (wzrost o 10%). Najwyższy plon korzeni odnotowano przy D10, który wynosił $0,253 \pm 0,052$ g ś.m., co oznaczało przyrost o 43% względem E2S2W1D0. Aplikacja stężenia *A. platensis* nie przyniosła dalszej poprawy, a uzyskana masa ($0,189 \pm 0,055$ g ś.m.) odpowiadała wzrostowi o 7% względem D0. Dla suchej masy części podziemnej *Lactuca sativa* w próbie kontrolnej uzyskano wartość $0,026 \pm 0,004$ g s.m. Dawka D5 skutkowała wzrostem masy korzeni do poziomu $0,029 \pm 0,005$ g s.m. (wzrost o 11,5%). Najwyższą wartość odnotowano dla D10 ($0,036 \pm 0,008$ g s.m.), co stanowiło przyrost o 39% względem kontroli. Dawka D15 spowodowała wzrost plonu o 19% do wartości $0,031 \pm 0,006$ g

s.m., względem E2S2W1D0. Analiza współczynnika determinacji dla świeżej masy części podziemnej roślin wykazała niską wartość $R^2 = 0,1259$, co świadczy o słabym dopasowaniu modelu dla wszystkich dawek. Po uwzględnieniu jedynie trzech najniższych dawek (D0, D5 i D10) współczynnik determinacji istotnie wzrósł do $R^2 = 0,9143$, wskazując na bardzo dobre dopasowanie modelu. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku suchej masy części podziemnej - dla wszystkich dawek uzyskano umiarkowaną wartość $R^2 = 0,4117$, natomiast dla dawek D0, D5 i D10 dopasowanie było bardzo dobre ($R^2 = 0,9831$).



Rysunek 53 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosowanej dawki nawozowej *A. platensis* (E2S2W1).

Wyniki analiz z przytoczonych wcześniej badań (Chittapun i in., 2018) wyrażone jako świeża masa części podziemnej, potwierdzają zwiększenie plonowania ryżu po aplikacji sinic. W pierwszej opcji zaobserwowano wzrost masy korzeni do poziomu $0,109 \pm 0,005$ g s.m., co stanowi 12% wzrost w porównaniu do próby kontrolnej ($0,097 \pm 0,010$ g s.m.). Najwyższą wartość odnotowano po zastosowaniu *N. commune* - $0,135 \pm 0,007$ g s.m., co odpowiadało wzrostowi o 39% względem kontroli. Mieszanka sinic doprowadziła do wzrostu masy korzeni do poziomu $0,111 \pm 0,004$ g s.m., co oznacza 14% poprawę względem próby bez nawożenia. Analiza suchej masy korzeni również wykazała, że zastosowanie sinic może zwiększyć ich masę. W wariantcie pierwszym uzyskano wartość $0,010 \pm 0,003$ g s.m., w drugim - $0,013 \pm 0,001$ g s.m., natomiast w trzecim - $0,012 \pm 0,006$ g s.m. Wzrost względem kontroli ($0,008 \pm 0,002$ g s.m.) wyniósł odpowiednio 25%, 62% oraz 50%. Także analizy suchej masy w odniesieniu do

zastępowania części nawozu chemicznego biomasą sinic przedstawiają efektywne działanie mikroorganizmów.

Analiza systemu korzeniowego wykazała porównywalną reakcję roślin na aplikację biomasy sinic zarówno w badaniu własnym, jak i w przytoczonym eksperymencie. W przeprowadzonym doświadczeniu odnotowano maksymalny przyrost świeżej masy korzeni o 43% względem próby kontrolnej, co jest zbliżone do wyniku 39% wzrostu uzyskanego w badaniu referencyjnym. Podobne zależności zaobserwowano także w odniesieniu do suchej masy korzeni - w badaniu własnym maksymalny wzrost wyniósł 39%, podczas gdy w badaniu literaturowym najwyższy odnotowany przyrost był o 62% większy w porównaniu z kontrolą. Zbieżność tych rezultatów potwierdza korzystny wpływ biomasy sinic na rozwój systemu korzeniowego roślin, niezależnie od specyfiki układu doświadczalnego.

Celem badań przeprowadzonych przez (Sherif i in., 2015) było natomiast określenie wpływu biomasy sinic, *Nostoc minutum* i *Anabaena spiroides*, samodzielnie lub w połączeniu z nawozem chemicznym lub organicznym, na plonowanie bobu (*Vicia faba* L.). Stosowanym podłożem była gleba zanieczyszczona metalami ciężkimi. Mieszanina sinic i nawozu organicznego charakteryzowała się wielkością plonu na poziomie $18,7 \pm 1,44$ g s.m. Uzyskana w biomasa bobu jest o 103% wyższa niż podczas nawożenia wyłącznie nawozem organicznym ($9,2 \pm 0,25$ s.m.) oraz 107% w przypadku wykorzystania tylko sinic ($9,0 \pm 0,30$ s.m.). Był to także wynik o 41% większy w porównaniu do zastosowania tylko nawozu chemicznego, gdzie zanotowano $13,2 \pm 1,39$ g s.m. (Sherif i in., 2015).

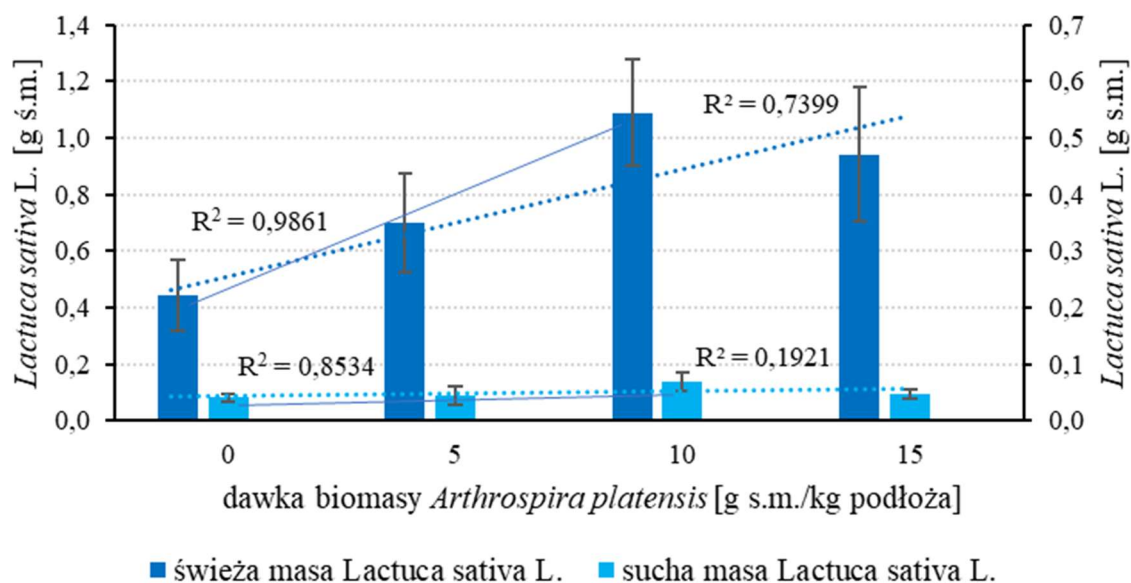
JSC-1A z recyklingu

W E2S2W2, stosowanym podłożem był symulant regolitu księżycowego JSC-1A z recyklingu. Oznacza to, że został wcześniej wykorzystany kilkakrotnie do uprawy. W warunkach kontrolnych (D0) świeża masa części nadziemnej wynosiła $0,442 \pm 0,12$ g ś.m. (Rys. 54). Zastosowanie biomasy *A. platensis* w dawce 5 g s.m./kg podłoża (D5) skutkowało zwiększeniem plonowania do $0,699 \pm 0,17$ g ś.m., co odpowiadało wzrostowi o 58% względem kontroli. W E2S2W2D10 zaobserwowano istotnie wyższy ($p \leq 0,05$) przyrost świeżej masy, który osiągnął wartość $1,088 \pm 0,19$ g ś.m. - wzrost o 146% względem D0. W przypadku największej dawki (D15) odnotowano wartość $0,942 \pm 0,23$ g ś.m., co stanowiło wzrost o 113% względem próby bez nawożenia. W odniesieniu do świeżej masy części nadziemnej roślin uzyskano wartość współczynnika determinacji $R^2 = 0,7399$, co wskazuje na dobre dopasowanie modelu regresyjnego. Po zawężeniu analizy do trzech najniższych dawek zaobserwowano

znaczny wzrost współczynnika determinacji do $R^2 = 0,9861$, co świadczy o bardzo dobrym dopasowaniu modelu w tym zakresie.

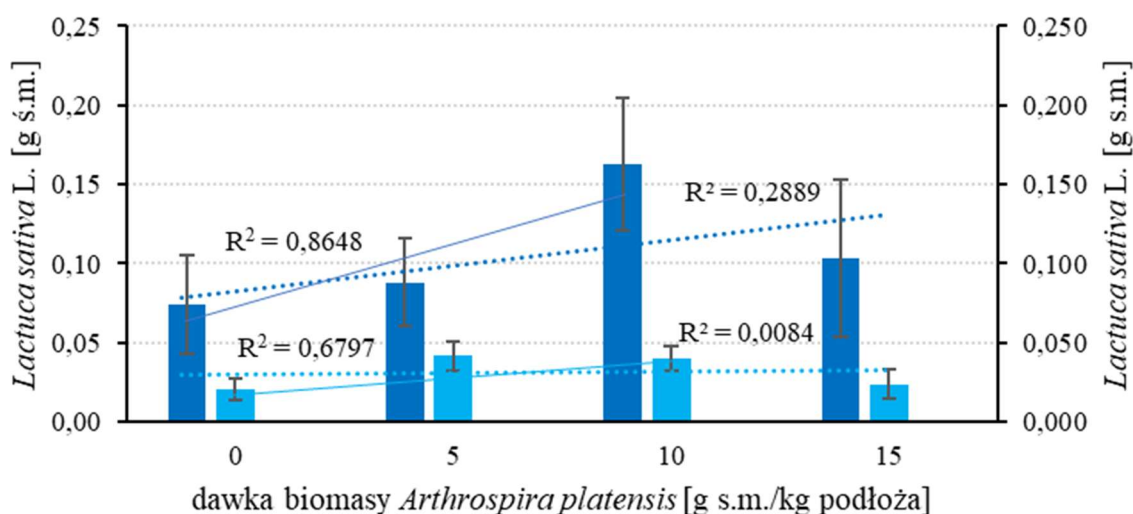
Porównując plon uzyskany na ziemi ogrodowej (E2S2W1D0) do ilości świeżej masy sałaty masłowej pozyskanej z podłoża, które stanowił symulant regolitu księżycowego JSC-1A z recyklingu (E2S2W2D0) wykazano iż, najwięcej świeżej masy części nadziemnej sałaty otrzymano na podłożu kontrolnym. W E2S2W2D0 świeża masa rośliny wskaźnikowej wyniosła 0,442 g ś.m. To wartość o 33% mniejsza od ilości świeżej masy liści otrzymanych w E2S2W1D0 (0,656 g ś.m). Odwrotną tendencję zaobserwowano dla suchej masy części nadziemnej sałaty masłowej, gdzie większy plon otrzymano w E2S2W2D0- 0,040 g s.m. To wzrost o 15% względem wartości kontrolnej (0,035 g s.m.).

Analiza suchej masy części nadziemnej wykazała, iż w próbie kontrolnej D0 uzyskano wartość na poziomie $0,040 \pm 0,006$ g s.m. Dawka D5 pozwoliła na osiągnięcie 10% wzrostu plonu ($0,044 \pm 0,016$ g s.m.). Zastosowanie biomasy sinic w E2S2W2D10 skutkowało wzrostem biomasy sałaty do $0,069 \pm 0,015$ g s.m., czyli o 70% względem kontroli, natomiast dawka 15 g s.m./kg nie wykazała intensyfikacji przyrostu biomasy sałaty masłowej. W przypadku suchej masy liści uzyskano niską wartość współczynnika determinacji dla zależności między stężeniem biomasy a uzyskanym plonem we wszystkich dawkach ($R^2 = 0,1921$), co wskazuje na słabe dopasowanie modelu. Natomiast analiza wybranych dawek (D0, D5 i D10) wykazała istotnie wyższy współczynnik determinacji ($R^2 = 0,8534$), co świadczy o dobrym dopasowaniu modelu regresyjnego w tym zakresie.



Rysunek 54 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *A. platensis* (E2S2W2).

Ilość świeżej masy części podziemnej w warunkach kontrolnych E2S2W2D0 wynosiła $0,074 \pm 0,03$ g s.m. (Rys. 55). Zastosowanie biomasy *A. platensis* w dawce D5 doprowadziło do wzrostu plonu do $0,088 \pm 0,028$ g s.m., natomiast zwiększenie dawki do D10 skutkowało istotnym zwiększeniem ($p \leq 0,05$) plonowania o 119% ($0,162 \pm 0,041$ g s.m.). Dla najwyższej dawki (E2S2W2D15) uzyskano wartość $0,103 \pm 0,049$ g s.m., która nie wskazuje na dalsze zwiększenie efektywności nawożenia.



Rysunek 55 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *A. platensis* (E2S2W2).

W odniesieniu do świeżej masy części podziemnej współczynnik determinacji osiągnął niską wartość $R^2 = 0,2889$, co wskazuje na bardzo słabe dopasowanie modelu regresyjnego dla pełnego zakresu dawek. Ograniczenie analizy wyłącznie do trzech najniższych dawek (D0, D5, D10) istotnie zwiększyło wartość współczynnika determinacji do $R^2 = 0,8648$, co odpowiada dobremu dopasowaniu modelu.

W analizie suchej masy korzeni w E2S2W2D0 zaobserwowano wartość plonowania na poziomie $0,020 \pm 0,006$ g s.m. Aplikacja biomasy sinic w stężeniach 5 g oraz 10 s.m./kg podłoża pozwoliło na uzyskanie odpowiednio o 105% i 97% większej ilości suchej masy korzeni ($0,042 \pm 0,009$ g s.m. i $0,040 \pm 0,008$ g s.m. względem D0). Zastosowanie najwyższej dawki sinic nie spowodowało dalszego wzrostu plonu *Lactuca sativa*. Współczynnik determinacji wykazał podobną tendencję dla masy części podziemnej roślin. Dla zakresu dawek D0, D5, D10 i D15 jego wartość wyniosła jedynie $R^2 = 0,0084$, co świadczy o bardzo słabym dopasowaniu modelu regresyjnego. Po ograniczeniu analizy do trzech najniższych dawek (D0, D5 i D10) odnotowano wzrost współczynnika determinacji do $R^2 = 0,6797$, co wskazuje na umiarkowane dopasowanie modelu.

W badaniach (Wamelink i Pouwels 2024) dotyczących uprawy roślin na symulantach regolitów księżycowych i marsjańskich analizy jednoznacznie potwierdzają istotny wpływ nawożenia (struwit) na zwiększenie biomasy fasoli szparagowej (*Phaseolus vulgaris*). W tym badaniu także wykorzystano symulant regolitu księżycowego JSC-1A, który był wcześniej wykorzystywany jako podłoże uprawne. W warunkach braku nawożenia plon uzyskany na symulancie regolitu księżycowego wyniósł 17,5 g s.m., natomiast w glebie ziemskiej jedynie 2,0 g s.m.. Oznacza to, że w przypadku braku nawożenia plon uzyskany na symulancie księżycowym był wyższy o 15,5 g s.m., co stanowi wzrost o 775% względem gleby ziemskiej. W badaniach własnych stwierdzono w większości parametrów niższą produktywność roślin uprawianych na symulancie. Analiza suchej masy części nadziemnej sałaty masłowej charakteryzuje się na ogół wyższym plonem w odniesieniu do ziemi doniczkowej poza D0, gdzie w E2S2W2 wartość ta osiąga wartość 0,040 g s.m., zaś w E2S2W1 0,035 g s.m. (o 15% lepsze plonowanie na symulancie). Także analiza suchej masy korzeni, uzyskana na JSC-1A z recyklingu wyniosła więcej w D5 i D10 porównaniu z glebą kontrolną. W E2S2W2D5 i E2S2W2D10 otrzymano wartość odpowiednio 0,042 g s.m. oraz 0,040 (o 40% i 33% lepsze plonowanie w porównaniu do E2S2W1D5 i E2S2W1D10 (odpowiednio 0,030 g s.m. i 0,036 g s.m.)).

Osiągnięte rezultaty w badaniu (Wamelink i Pouwels, 2024) są także zaskakujące dla jego autorów. W większości przypadków plon uzyskany na symulantach podłoży

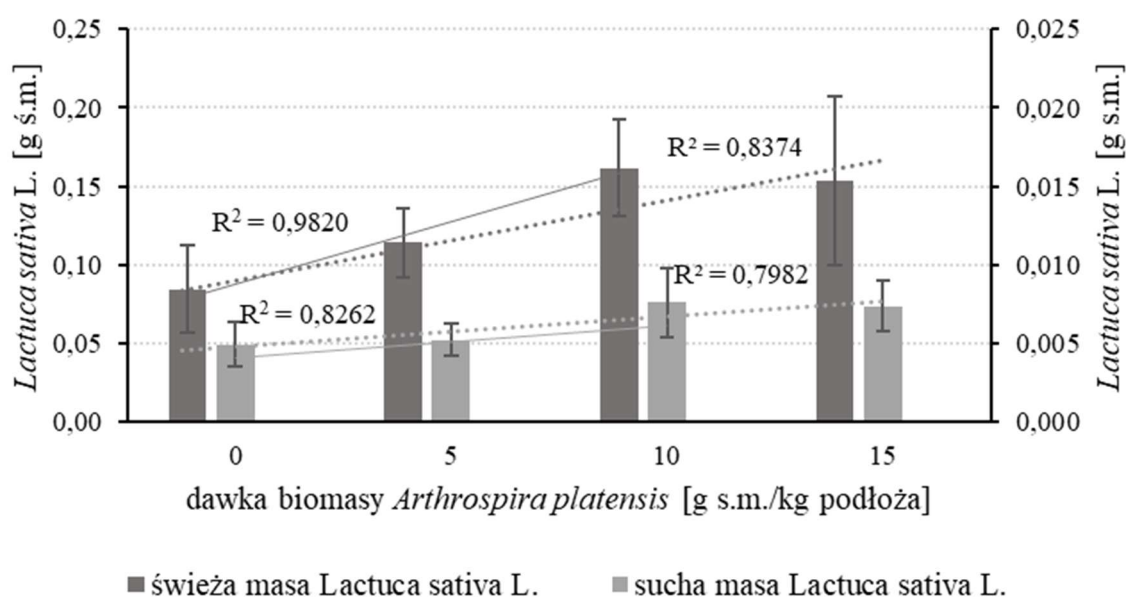
poziemi jest mniejszy niż podczas uprawy na glebie ziemskiej. Była to także pierwsza sytuacja, gdzie masa rośliny wskaźnikowej uprawianej na nawożonym podłożu ziemskim była prawie równa plonowi uzyskanemu z nawożonego podłoża JSC-1A. Słabe plonowanie rośliny wskaźnikowej na ziemi ogrodowej było także zaskakującym zjawiskiem dla autorów pracy. Zaobserwowany słaby wzrost fasoli na podłożu kontrolnym pozbawionym dodatku struwitu może wynikać z ograniczonej dostępności łatwo przyswajalnych składników odżywczych, w szczególności azotu. Żółknięcie liści oraz brązowe plamy wskazują na symptomy niedoborów składników mineralnych, które mogą być rezultatem zbyt powolnej mineralizacji materii organicznej obecnej w glebie. W warunkach eksperymentalnych zastosowana gleba doniczkowa była regularnie zasilana roztworem nawozowym w celu uzupełnienia niedoborów składników pokarmowych wynikających z niskiej intensywności naturalnych procesów mineralizacji. Autor wskazuje, że powolne tempo rozkładu materii organicznej ogranicza dostępność przyswajalnych form pierwiastków, co może wpływać na efektywność wzrostu roślin w takich warunkach. Zastosowanie nawozu istotnie zwiększyło plon zarówno na symulancie regolitu księżycowego, jak i w glebie ziemskiej. W przypadku symulanta, nawożenie doprowadziło do wzrostu biomasy do 37,0 g ś.m., co oznaczało przyrost o 19,5 g ś.m. względem wariantu kontrolnego (wzrost o 110%). W glebie ziemskiej efekt był jeszcze bardziej wyraźny - biomasa osiągnęła 44,0 g ś.m., czyli o 42,0 g ś.m. więcej niż w próbie bez nawożenia, co odpowiada wzrostowi o 2100% (Wamelink i Pouwels, 2024).

AGK-2010

W E2S2W3 zastosowano jako podłoże symulant regolitu księżycowego AGK-2010. Odnosząc się do ilości zebranych liści w próbie kontrolnej (D0) świeża masa części nadziemnej wynosiła $0,085 \pm 0,028$ g ś.m. (Rys. 56). Zastosowanie dawki 5 g s.m./kg podłoża (D5) skutkowało wzrostem tej wartości do $0,114 \pm 0,02$ g ś.m., co stanowiło przyrost o 34% względem próby kontrolnej. Najwyższy średni plon świeżej masy nadziemnej *Lactuca sativa* odnotowano przy dawce 10 g s.m./kg podłoża (D10), gdzie uzyskano $0,162 \pm 0,03$ g ś.m., co odpowiadało wzrostowi o ponad 90% w stosunku do D0. Aplikacja najwyższej dawki biomasy (D15) skutkowała wzrostem o 81% plonu sałaty masłowej względem kontroli. W odniesieniu do świeżej masy części nadziemnej roślin stwierdzono wysoką wartość współczynnika determinacji dla pełnego zakresu dawek ($R^2 = 0,8374$), co wskazuje na dobre dopasowanie modelu regresyjnego. Po zawężeniu analizy do trzech najniższych poziomów stężeń sinic wartość R^2 wzrosła do 0,9820, co świadczy o bardzo dobrym dopasowaniu modelu w tym zakresie.

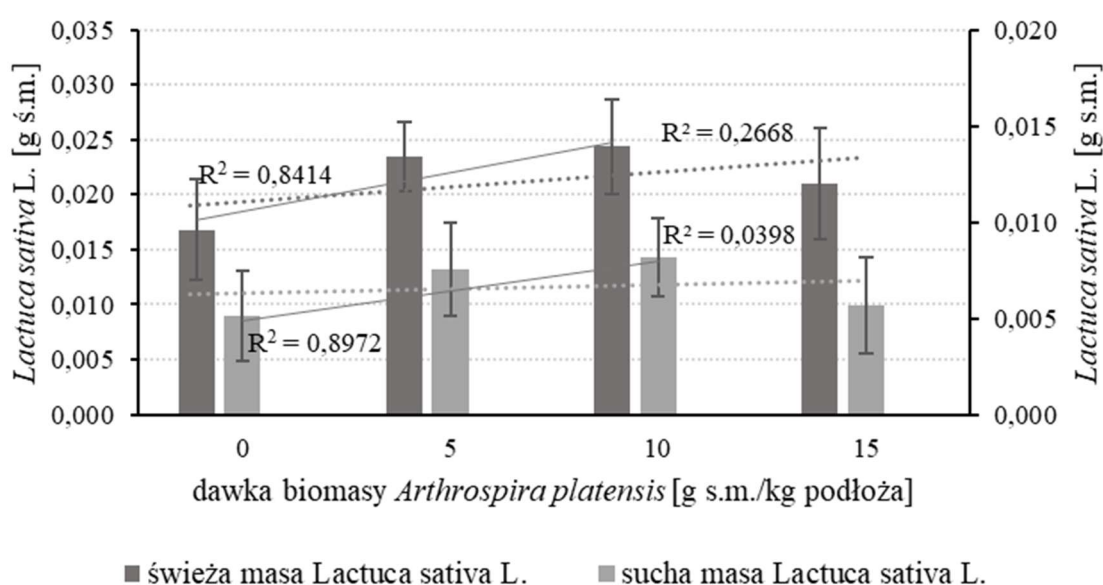
W przypadku suchej masy części nadziemnej rośliny wskaźnikowej, w E2S2W3D0 uzyskano wartość $0,005 \pm 0,001$ g s.m. Taka sama wartość została odnotowana również dla D5, co świadczy o braku wzrostu w odpowiedzi na aplikację najniższej dawki sinic. Dopiero przy dodatku stężenia sinic w ilości 10 g s.m./kg podłoża zauważono przyrost suchej masy *Lactuca sativa* do poziomu $0,008 \pm 0,002$ g s.m. (wzrost o 60% względem D0), natomiast D15 przyniosło wartość $0,007 \pm 0,001$ g s.m., co stanowiło wzrost o 40% względem kontroli. Analogicznie, w przypadku suchej masy części nadziemnej uzyskano wartość współczynnika determinacji $R^2 = 0,7982$ dla pełnego zakresu dawek, co wskazuje na dobre dopasowanie modelu regresyjnego. Po zawężeniu analizy do trzech początkowych dawek wartość R^2 nieznacznie wzrosła do 0,8262, utrzymując się nadal na poziomie dobrego dopasowania.

Analizując część podziemną, świeża masa korzeni sałaty masłowej w kontroli (D0) wynosiła $0,017 \pm 0,004$ g ś.m. (Rys. 57). Aplikacja zarówno D5, jak i D10 przyniosła tożsame wartości (odpowiednia $0,023 \pm 0,003$ g ś.m. oraz $0,024 \pm 0,004$ g ś.m.). W E2S2W3D15 odnotowano wartość $0,021 \pm 0,005$ g ś.m., co oznaczało przyrost o 23,5% względem D0. Współczynnik determinacji dla świeżej masy korzeni osiągnął wartość $R^2 = 0,2668$. Ograniczenie analizy do trzech najniższych dawek spowodowało wzrost R^2 do 0,8414, co świadczy o dobrym dopasowaniu stężenia zastosowanego bionawozu.



Rysunek 56 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *A. platensis* (E2S2W3).

W odniesieniu do suchej masy części podziemnej *Lactuca sativa*, w warunkach kontrolnych uzyskano wartość $0,005 \pm 0,002$ g s.m. W E2S2W3D10 i E2S2W3D15 zarejestrowano wzrost plonu do poziomu $0,008 \pm 0,002$ g s.m., co stanowiło przyrost o 60% względem kontroli. Dla dawki D15 masa sucha części podziemnej wyniosła $0,006 \pm 0,003$ g s.m., co stanowiło wzrost o 20% względem D0. Wyraźniejszą różnicę zaobserwowano dla suchej masy korzeni. Przy uwzględnieniu wszystkich dawek uzyskano niską wartość współczynnika determinacji ($R^2 = 0,0398$), co wskazuje na bardzo słabe dopasowanie modelu regresyjnego. Natomiast po ograniczeniu analizy do trzech najniższych dawek współczynnik determinacji wzrósł do $R^2 = 0,8972$, co świadczy o bardzo dobrym dopasowaniu modelu.



Rysunek 57 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *A. platensis* (E2S2W3).

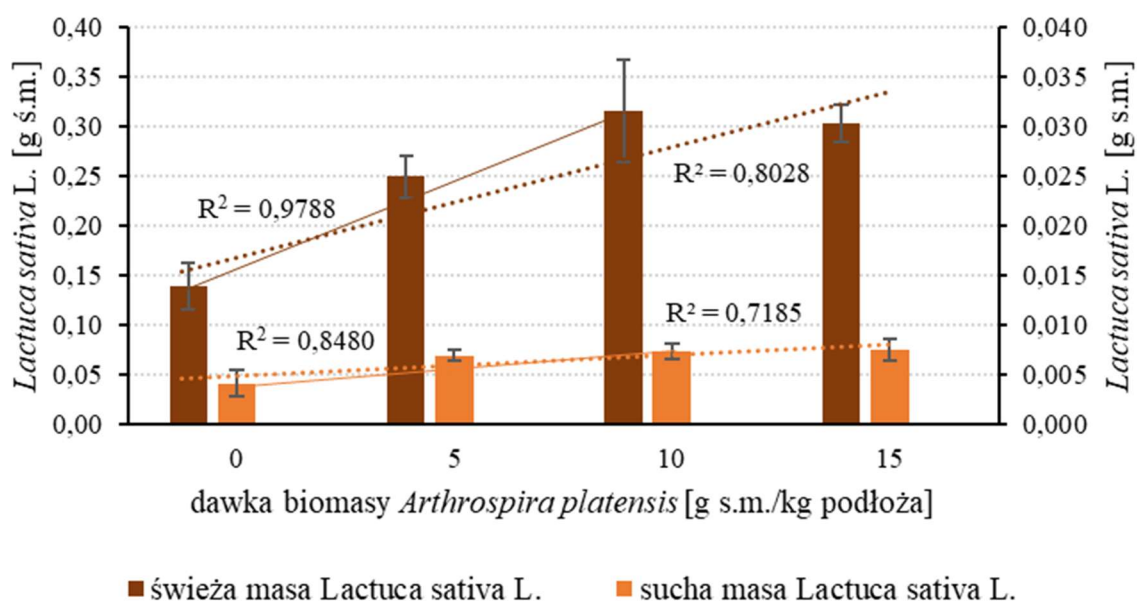
W E2S2W3 plon sałaty masłowej był najmniejszy. Podobnie jak w przypadku nawożenia biomasą *C. vulgaris*. Wynika to z faktu, iż symulant ten nie został przygotowany pod zastosowania rolnicze. Jest wykorzystywany do testowania komponentów, urządzeń i maszyn wykonujących zadania na powierzchni Księżyca w warunkach obniżonej grawitacji (Seweryn i in., 2019). Należy jednak zauważyć, że nie jest on reprezentatywny pod względem składu pierwiastkowego charakterystycznego dla regolitu księżycowego. Podstawowymi właściwościami, których wartości porównywano opracowując polski odpowiednik analogu regolitu księżycowego były: skład granulometryczny, właściwości fizyczne (gęstość nasypowa, barwa), właściwości mechaniczne (wytrzymałość na ścinanie, kąt tarcia wewnętrznego, kohezja) (Bednarz i in., 2013).

MMS-1

Symulant regolitu marsjańskiego MMS-1 został wykorzystany w E2S2W4. W warunkach kontrolnych (D0) średnia świeża masa części nadziemnej rośliny wskaźnikowej wynosiła $0,139 \pm 0,02$ g ś.m. (Rys. 58). W D5 odnotowano istotny ($p \leq 0,05$) wzrost ilości liści do $0,250 \pm 0,02$ g ś.m., co odpowiadało wzrostowi o 80% względem próby kontrolnej. Zastosowanie dawki 10 g s.m./kg podłoża doprowadziło do dalszego istotnego ($p \leq 0,05$) zwiększenia plonu *Lactuca sativa* do $0,315 \pm 0,05$ g ś.m., tj. o 127% w porównaniu z D0. W E2S2W4D15 uzyskano wartość $0,303 \pm 0,02$ g ś.m., co stanowiło wzrost o 118% względem kontroli. Analizując suchą masę liści sałaty masłowej w próbie kontrolnej jej plon wynosił $0,004 \pm 0,001$ g s.m. Zarówno w wariantach D5, D10, jak i D15 odnotowano zwiększenie tej wartości do poziomu 0,007 g s.m. (odpowiednio $\pm 0,0004$; $\pm 0,0007$; $\pm 0,0001$), co przekładało się na wzrost o 75,0% względem kontroli. Różnice między trzema dawkami nawozu były jednak nieistotne statystycznie. W przypadku świeżej masy części nadziemnej roślin uzyskano współczynnik determinacji na poziomie $R^2 = 0,8028$, co wskazuje na dobre dopasowanie modelu regresyjnego dla pełnego zakresu zastosowanych dawek *A. platensis*. Po uwzględnieniu jedynie trzech najniższych stężeń wartość R^2 wzrosła do 0,9788, co świadczy o bardzo dobrym dopasowaniu modelu.

W przypadku suchej masy części nadziemnej uzyskane współczynniki determinacji były nieco niższe - $R^2 = 0,7185$ dla całego zakresu dawek oraz $R^2 = 0,8480$ przy analizie trzech pierwszych poziomów aplikacji - jednak nadal wskazują na wyraźną zależność między ilością zastosowanych sinic a akumulacją suchej masy w częściach nadziemnych sałaty masłowej. Porównując plonowanie sałaty masłowej w E2S2W1 do E2S2W4 można stwierdzić, iż ilość biomasy *Lactuca sativa* na podłożu kontrolnym była istotnie wyższa w porównaniu do MMS-1. W E2S2W1D0 świeża masa sałaty wyniosła 0,659 g ś.m., co jest wartością o ponad 370% wyższą w porównaniu do E2S2W4D0 (0,139 g ś.m.). Podobne wyniki uzyskano w badaniu (Gonçalves i in., 2024), w którym kilka roślin, w tym groch (*Pisum sativum*), marchew (*Daucus carota*) i pomidory (*Solanum lycopersicum*) uprawiano w trzech rodzajach podłoża (symulant regolitu marsjańskiego MMS-1, gleba doniczkowa i piasek). Rośliny wysiewano osobno (monokultura) bądź jako międzyplon. Do każdego z podłoży dodano bakterie *Rhizobium leguminosarum*. Odnosząc się do uprawy w trybie monokultury sucha biomasa części nadziemnej pomidorów ($15,68 \pm 0,28$ g s.m.) i grochu ($8,18 \pm 0,88$ g s.m.) uprawianych na ziemi

doniczkowej była wyższa w porównaniu do MMS-1 ($2,15 \pm 0,35$ g s.m.) i piasku ($1,01 \pm 0,14$ g s.m.). Różnice te wyniosły odpowiednio 730% i 810%.

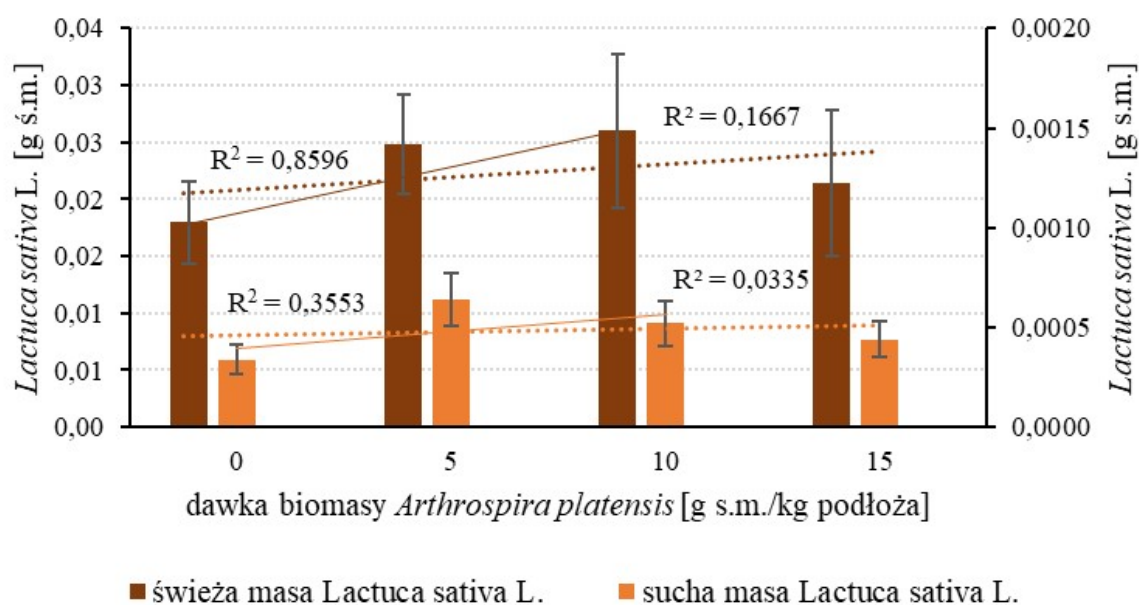


Rysunek 58 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosownej dawki nawozowej *A. platensis* (E2S2W4).

Plon marchwi na MMS-1 był najmniejszy i wyniósł $0,19 \pm 0,08$ g s.m. Plonowanie *Daucus carota* na podłożu kontrolnym pozwoliło na uzyskanie biomasy w ilości $0,79 \pm 0,26$ g s.m. (Gonçalves i in., 2024). W przeprowadzonych badaniach własnych różnica plonu sałaty między podłożem kontrolnym a symulantem regolitu marsjańskiego (MMS-1) wyniosła 370%, co, jest wartością niższą niż odnotowane w przytoczonym badaniach.

W odniesieniu do części podziemnej sałaty, w E2S2W4D0 świeża masa korzeni wynosiła $0,018 \pm 0,003$ g s.m. (Rys. 59). Zastosowanie biomasy *A. platensis* w dawce 5 g s.m./kg skutkowało wzrostem do $0,0248 \pm 0,004$ g s.m. (wzrost o 38%), natomiast zastosowanie stężenia sinic w ilości 10 g s.m./kg podłoża wykazało dalsze zwiększenia plonu korzeni do $0,026 \pm 0,006$ g s.m., co stanowiło wzrost o 45% względem D0. Najwyższa dawka (D15) nie przyniosła dalszego wzrostu plonu *Lactuca sativa*. Sucha masa części podziemnej sałaty w próbie kontrolnej wynosiła $0,0003 \pm 0,00001$ g s.m. Zastosowanie dawki D5 spowodowało jej podwojenie do $0,0006 \pm 0,0003$ g s.m. (wzrost o 100%) co wskazuje na istotnie ($p \leq 0,05$) wyższy plon. W przypadku E2S2W4D10 i E2S2W4D15 uzyskano wartości $0,0005 \pm 0,0002$ g s.m. i $0,0004 \pm 0,0002$ g s.m., co odpowiada wzrostowi o odpowiednio 67% i 33% względem E2S2W4D0.

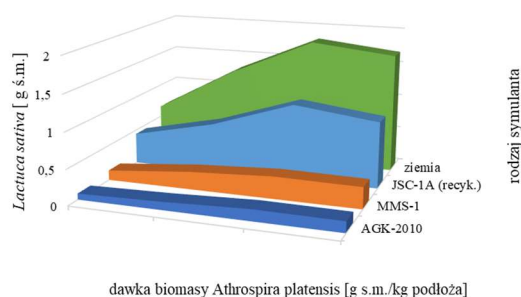
Dla świeżej masy części podziemnej roślin współczynnik determinacji uzyskany dla pełnego zakresu dawek był stosunkowo niski ($R^2 = 0,1667$), co wskazuje na słabe dopasowanie modelu regresyjnego. Zawężenie analizy do trzech najniższych dawek (D0, D5 i D10) spowodowało wzrost R^2 do 0,8596, co świadczy o dobrym dopasowaniu modelu w tym zakresie. W przypadku suchej masy korzeni współczynnik determinacji wskazywał na bardzo słabe dopasowanie zarówno dla wszystkich dawek ($R^2 = 0,0335$), jak i po ograniczeniu analizy do D0, D5 i D10 ($R^2 = 0,3553$), co wciąż mieści się w zakresie słabego dopasowania.



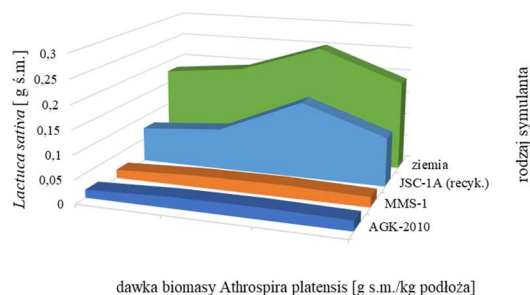
Rysunek 59 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności stosowanej dawki nawozowej *A. platensis* (E2S2W4).

Zaobserwowana tendencja wzrostu plonowania sałaty masłowej po zastosowaniu biomasy sinic jako dodatku do podłoża wynika z analizy danych eksperymentalnych dotyczących wykorzystania tej biomasy w roli nawozu (Rys. 60, Rys. 61, Rys. 62, Rys. 63). Efekty obserwowano we wszystkich testowanych wariantach podłoża. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że aplikacja *A. platensis* pozytywnie wpływa na wydajność uprawy - niezależnie od rodzaju użytego podłoża, dodatek biomasy sinic skutkował wyraźnym wzrostem średniego plonu w porównaniu z próbami kontrolnymi, w których nie stosowano innych źródeł składników odżywczych.

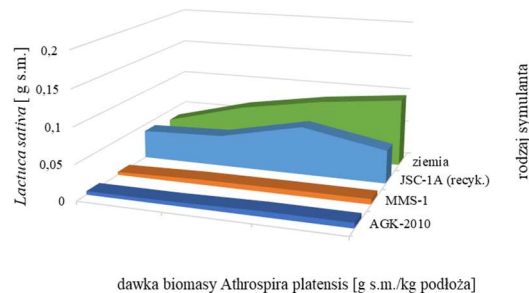
Zaobserwowano także, że większe ilości aplikowanej biomasy sinic przekładały się zazwyczaj na większe przyrosty plonu. Takie rezultaty sugerują, że *A. platensis* może pełnić funkcję efektywnego biostymulatora wzrostu roślin, a jej zastosowanie w charakterze naturalnego nawozu może stanowić realną alternatywę dla konwencjonalnych metod nawożenia, zwłaszcza w kontekście upraw prowadzonych w warunkach ograniczonych zasobów, np. stacjach i habitatach kosmicznych. Wnioski te podkreślają potencjał biomasy sinic jako narzędzia poprawiającego efektywność produkcji roślinnej, przy jednoczesnym ograniczeniu presji środowiskowej związanej z wykorzystaniem syntetycznych nawozów mineralnych oraz zachowaniu zasad ISRU.



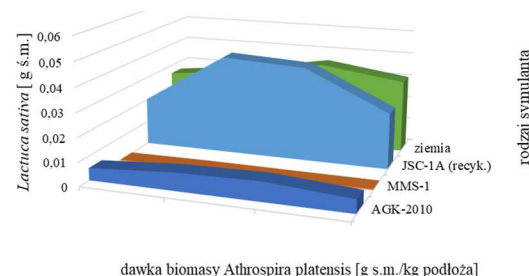
Rysunek 61 Zależność akumulacji świeżej biomasy części nadziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia *A. platensis*.



Rysunek 62 Zależność akumulacji świeżej biomasy części podziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia *A. platensis*.



Rysunek 63 Zależność akumulacji suchej biomasy części nadziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia *A. platensis*.



Rysunek 60 Zależność akumulacji suchej biomasy części podziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia *A. platensis*.

W badaniu (Dineshkumar i in., 2018) oceniano wpływ *Spirulina platensis* na wzrost i produktywność ryżu. Zastosowanie sinic jako nawozu pozwoliło na redukcję dawki nawozu azotowego o 50-75%, przy jednoczesnym zachowaniu lub zwiększeniu parametrów wzrostu, takich jak wysokość roślin (53,4-66,1 cm), liczba liści (38,2-43,2) oraz świeża (12,87-20,22 g s.m.) i sucha masa (2,63-2,98 g s.m.). Ponadto, zaobserwowano poprawę aktywności enzymatycznej gleby oraz zwiększenie dostępności makroskładników. Shedeed i in., 2022 badali wpływ ekstraktu z *Spirulina platensis* na wzrost i plonowanie łubinu żółtego (*Lupinus*

luteus). Najlepsze rezultaty uzyskano przy stężeniu biomasy 0,25%, gdzie zaobserwowano zwiększenie długości korzeni (8,0 cm), świeżej masy pędów (5,19 g ś.m.) oraz liczby strąków na roślinę (15). Zastosowanie wyższych stężeń ekstraktu (1,0%) prowadziło do zahamowania wzrostu, co sugeruje konieczność optymalizacji dawek. W kontekście stresu solnego, badania (Zhao i in., 2023) wykazały, że aplikacja *A. platensis* poprawia tolerancję roślin na zasolenie poprzez zwiększenie długości korzeni, zawartości chlorofilu oraz aktywności fotosyntetycznej. Ponadto, zaobserwowano korzystny wpływ na strukturę mikrobiomu ryzosfery, co może przyczyniać się do lepszego pobierania składników odżywczych.

Serie E2S1W1 oraz E2S2W1 stanowiły próbę kontrolną i tak jak przewidywano, na podłożu ziemskim zaobserwowano największą produktywność roślinną. Drugim podłożem charakteryzującym się wysokim plonem był E2S1W2 oraz E2S2W2 którą stanowił symulant regolitu księżycowego wykorzystywanego wcześniej kilkakrotnie do uprawy roślin. Podobieństwo w wielkości plonu w serii E2S1W1 oraz E2S2W1, którą stanowiła ziemia doniczkowa oraz serii E2S1W2 oraz E2S2W2 gdzie podłoże stanowił symulant regolitu księżycowego poddany recyklingowi może wynikać z faktu, iż symulant ten zawiera część materii organicznej (martwe części roślin, obumarłe korzenie) pozostałej po wcześniejszym użyciu. Ten efekt może być rezultatem akumulacji substancji odżywczych w regolicie, co sugeruje potencjał regolitu do stania się bardziej żyznym z każdym kolejnym użyciem (Wamelink i Pouwels, 2024). Oznacza to, iż wykorzystywanie powtórnie tego samego regolitu powoduje, że podłoże staje się coraz bardziej żyzne i odpowiednie do uprawy roślin. Wzrost żyzności regolitu w wyniku jego recyklingu przyczynia się do ulepszenia zrównoważenia rolnictwa na księżycu.

Dopiero separacja związków ferromagnetycznych E2S1W4 bądź recykling regolitu E2S1W2 i E2S2W2 zwiększa efektywność plonowania roślin na symulancie regolitu księżycowego. Najmniejszy plon sałaty zebrano w E2S1W4 oraz E2S2W4 gdzie podłoże stanowił symulant regolitu księżycowego AGK-2010. Ilość zebranej biomasy sałaty wynosiła kolejno 0,28 g ś.m. oraz 0,51 g ś.m.

Porównując całkowitą wartość uzyskanej biomasy na podłożu marsjańskim E2S1W6 oraz E2S2W5 można stwierdzić, iż substrat ten okazał się lepszy do uprawy sałaty niż symulant regolitu księżycowego bez modyfikacji (E2S1W3 i E2S2W3). Podobne wyniki przedstawiające lepsze plonowanie roślin na symulantach regolitu marsjańskiego uzyskano także w innych badaniach dotyczących uprawy roślin na symulantach regolitów pozaziemskich (Wamelink i in., 2014). Jednakże w późniejszym badaniu tego samego autora (Wamelink i Pouwels, 2024) plon rośliny wskaźnikowej był mniejszy na symulancie regolitu marsjańskiego niż na podłożu

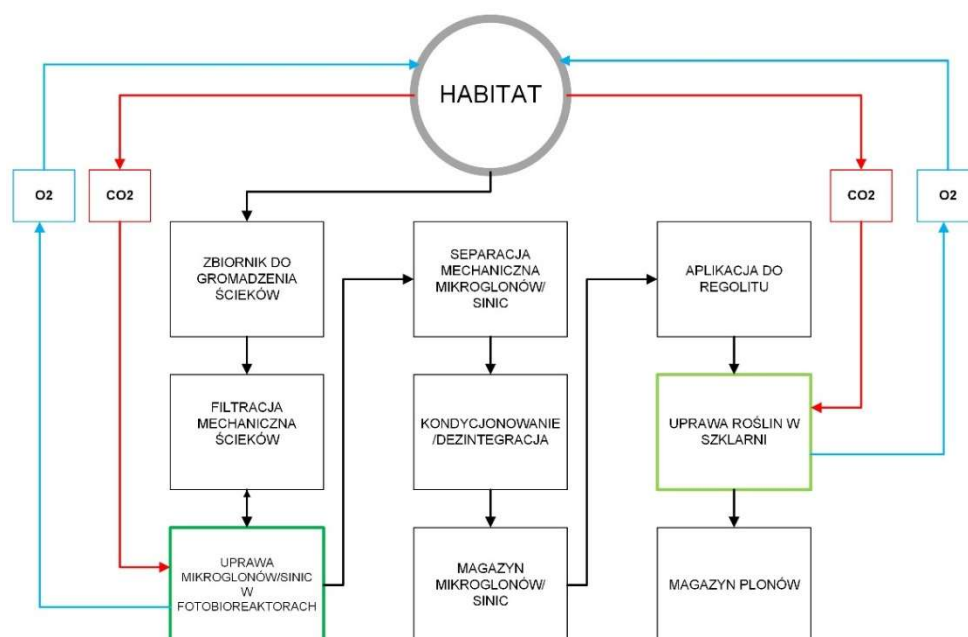
symulującym powierzchnię Księżyca (Wamelink i in., 2014, 2019). Jedną z przyczyn tego zjawiska może być brak potasu. Potwierdzeniem były widoczne martwice, zwłaszcza na starych liściach (Cakmak, 2005). W przytoczonym eksperymencie użyto symulantów regolitów wykorzystanych we wcześniejszych doświadczeniach (tak jak miałyby to miejsce na Marsie i Księżycu). Wcześniejsza uprawa roślin mogła wyczerpać zapas tego pierwiastka. Kolejnym wyjaśnieniem może być poprawny wzrost roślin na symulancie regolitu księżycowego. Dodanie materii organicznej może wiązać aluminium w roztworze glebowym, co skutkuje zwiększonym plonowaniem (Wamelink i Pouwels, 2024).

Całkowity brak plonowania rośliny wskaźnikowej obserwowano w E2S1W7 oraz E2S2W5 (symulant regolitu marsjańskiego MGS). Identyczne rezultaty osiągnięto w badaniu (Eichler i in., 2021).

7. Podstawowe założenia techniczno-technologiczne

W przyszłościowe scenariusze eksploracji księżyca i Marsa wpisują się koncepcje samowystarczalnych habitatów kosmicznych, które wymagają zamkniętych obiegów materii i energii. Odpady, w tym ścieki bytowe, powinny być traktowane w tych warunkach jako zasoby do dalszego wykorzystania. W opinii autorki dysertacji jednym z potencjalnych i perspektywicznych sposobów ich zagospodarowania jest wykorzystanie ich jako pożywki dla mikroglonów/sinic w fotobioreaktorach. Uzyskana biomasa, co zweryfikowano w badaniach własnych, może następnie służyć jako nawóz i biostymulant dla roślin uprawianych na przygotowanych regolitach pozaziemskich.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, iż systemy hodowli mikroglonów zasilanych ściekami bytowymi w habitatach kosmicznych mogą stanowić jeden z kluczowych elementów technologii obiegu zamkniętego w przyszłych misjach załogowych na księżyc i Marsa. Ich celem jest nie tylko oczyszczanie ścieków, produkcja wysokowartościowej biomasy mikroglonów/sinic z przeznaczeniem na nawóz i biostymulant, a także element biosekwestracji CO₂ przy jednoczesnej produkcji O₂. Układ technologiczny powinien składać się z kilku koniecznych i zintegrowanych procesów jednostkowych, w tym wstępnego oczyszczania ścieków (filtracja mechaniczna, filtracja membranowa), hodowli mikroglonów/sinic w fotobioreaktorach zamkniętych zasilanych ściekami i powietrzem zasobnym w CO₂, zagęszczania, separacji i kondycjonowania biomasy mikroglonów/sinic, aplikacji biomasy do regolitu oraz uprawy roślin i zbioru roślin. Schemat proponowanego ciągu technologicznego wraz z procesami jednostkowymi przedstawiono poniżej na rysunku 64. Ścieki bytowe generowane w habitacie są najpierw oczyszczane mechanicznie, a następnie kierowane do buforowego (retencyjnego) zbiornika, skąd są odpowiednio dawkowane do fotobioreaktora zamkniętego. Fotobioreaktory mogą przyjąć formę płytowych lub rurowych zamkniętych systemów wyposażonych w sztuczne źródła światła LED (200-300 μmol/m²/s), zapewniających kontrolowany fotoperiod 16h:8h - 8h:16h (dzień:noc). Systemy te pracują w temperaturze 22-28 °C, z automatyczną regulacją pH na poziomie 7,0-7,5. Regulacja pH powinna być zintegrowana z systemem dozowania CO₂ do układu technologicznego. Mieszanie realizowane jest poprzez napowietrzanie mieszaniną gazową zawierającą 3000 ppm do 2% CO₂ (v/v) z przepływem na poziomie 0,1-0,4 m³/m³·h. Gatunki mikroglonów zastosowane w systemie to *C. vulgaris* oraz *A. platensis*, ze względu na ich wysoką tolerancję środowiskową i potencjał biotechnologiczny. Zakłada się, iż średnia wydajność biomasy mikroglonów/sinic może wynosić od 0,3 do 0,6 g s.m./dm³·doba.



Rysunek 64 Schemat funkcjonalny procesów jednostkowych w zintegrowanym systemie oczyszczania ścieków, produkcji biomasy mikroglonów/sinic i ich wykorzystania w rolnictwie pozaziemskim.

W przeliczeniu na fotobioreaktor o objętości 1000 dm³, dzienna produkcja biomasy mikroglonów/sinic wynosi od 300 do 600 g s.m., co w skali roku daje około 100-200 kg biomasy przypadającej na jednego członka załogi.

Po zakończeniu procesu hodowli biomasa mikroglonów/sinic musi zostać oddzielona od medium hodowlanego metodami filtracji mechanicznej lub separacji membranowej. W zależności od przeznaczenia, może być stosowana w formie świeżej, suszonej lub jako wyekstrahowane frakcje aktywne biologicznie. Tak przygotowana biomasa mikroglonów/sinic aplikowana jest do regolitu księżycowego lub marsjańskiego, który wcześniej może zostać poddany procesowi frakcjonowania (usunięcia frakcji ferromagnetycznej) i ewentualnie zmieszany z dodatkami poprawiającymi właściwości fizykochemiczne (np. biowęgiel, kompost grzybowy, perlit). Optymalna dawka biomasy mikroglonów/sinic wynosi 5-10 g s.m. na kilogram regolitu. Dodatek biomasy znacząco poprawia właściwości sorpcyjne podłoża, zwiększa zawartość materii organicznej oraz wspiera rozwój mikroflory glebowej (jeśli dodano inokulum), co przekłada się na poprawę wzrostu roślin.

Największymi wyzwaniami dla takiego systemu są kontrola kontaminacji biologicznej, stabilność parametrów środowiskowych (szczególnie w warunkach zmiennej temperatury i promieniowania pozaziemskiego), niezawodność automatyki systemowej (monitoring pH, tlenu rozpuszczonego, oświetlenia, przepływu CO₂), a także optymalizacja składu pożywki przygotowywanej ze ścieków. Pomimo tych trudności, technologia ta ma potencjał kluczowego

komponentu w przyszłych systemach rolnictwa regeneracyjnego w warunkach pozaziemskich, przyczyniając się do zwiększenia samowystarczalności misji oraz poprawy dobrostanu psychicznego załogi poprzez wprowadzenie żywych elementów zieleni w przestrzeniach kosmicznych. W tabeli 8 zestawiono procesy jednostkowe w zintegrowanym systemie zagospodarowania ścieków bytowych powstających w habitatach kosmicznych poprzez zasilanie fotobioreaktorów do produkcji mikroglonów/sinic z wykorzystaniem uzyskanej biomasy jako biostymulatorów i nawozów do zasilania regolitów marsjańskich i księżycowych.

Tabela 8 Wykaz i charakterystyka procesów jednostkowych z zintegrowanym systemie oczyszczania ścieków bytowych, produkcji biomasy mikroglonów/sinic oraz wykorzystania ich biomasy do użyźniania gleb pozaziemskich (regolitów).

Proces jednostkowy	Funkcja	Proces/parametry eksploatacyjne	Trudności i zagrożenia
Wstępne oczyszczanie ścieków	Usunięcie większych cząstek i zawiesin z ścieków bytowych	Filtracja mechaniczna, filtracja membranowa	Zapychanie filtrów; wahania składu ścieków; potrzeba wysokiej niezawodności automatyki
Magazynowanie/Buforowanie ścieków	Retencja i kontrolowane dawkowanie ścieków do fotobioreaktorów	Zbiorniki retencyjne z kontrolą dawkowania	Ryzyko namnażania patogenów; potrzeba utrzymania warunków beztlenowych lub chłodzenia
Hodowla mikroglonów/sinic w fotobioreaktorach zamkniętych	Produkcja biomasy z wykorzystaniem składników ściekowych i CO ₂	- Typy reaktorów: rurowe lub płytowe - Oświetlenie: LED 200-300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ - Fotoperiod: 16h:8h lub 8h:16h (dzień:noc) - Temperatura: 22-28°C - pH: 7,0-7,5 (automatyczna regulacja) - CO₂: do 3000 ppm - Przepływ gazu: 0,1-0,4 $\text{m}^3/\text{m}^3 \cdot \text{h}$	Kontaminacja mikrobiologiczna; zmienność warunków środowiskowych; awarie systemów regulacyjnych (pH, światło, CO ₂); potrzeba izolacji od promieniowania kosmicznego
Zagęszczanie i separacja biomasy	Oddzielenie biomasy od pożywki	Filtracja mechaniczna, separacja membranowa	Straty biomasy; energochłonność; konieczność sterylności
Kondycjonowanie biomasy	Przygotowanie biomasy do aplikacji	Formy: świeża, suszona, ekstrakty biologiczne	Trudność przechowywania; konieczność stabilizacji aktywnych związków
Aplikacja biomasy do regolitu	Nawożenie podłoża pozaziemskiego	Dawka: 5-10 g s.m./kg regolitu	Nierównomierna aplikacja; potrzeba wcześniejszego przygotowania regolitu (frakcjonowanie, dodatki)
Uprawa roślin i zbiór	Wykorzystanie wzbogaconego regolitu do wzrostu roślin	Możliwość zastosowania dodatków (biowęgiel, kompost grzybowy, perlit); inokulacja mikroflory glebowej	Trudność utrzymania równowagi mikrobiologicznej; ograniczone zasoby wody i składników odżywczych

Biosekwestracja CO ₂ i produkcja O ₂	Utylizacja CO ₂ i produkcja tlenu przez mikroglony	stężenie CO ₂ : do 3000 ppm produkcja biomasy: 0,3-0,6 g s.m./dm ³ ·doła wiązanie 1,6 - 2,0 g CO ₂ /g s.m., wytwarzanie 1,1 g O ₂ /g s.m.	Nie zrównoważony bilans gazowy; potrzeba dokładnego monitoringu atmosfery habitatów
---	---	---	--

8. Podsumowanie i wnioski końcowe

Przeprowadzone prace eksperymentalne i badania pozwoliły na określenie potencjału możliwości zastosowania biomasy mikroglonów *C. vulgaris* oraz sinic *A. platensis* pozyskanej z fotobioreaktorów zasilanych ściekami bytowymi do nawożenia symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych w celu poprawy ich potencjału uprawowego. Ten zabieg agrotechniczny zastosowano w celu modyfikacji żyzności testowanego podłoża i podniesienia wydajności wzrostu i rozwoju roślin uprawnych. Kończącą ocenę wykonano w oparciu o analizę uzyskiwanych plonów rośliny wskaźnikowej, którą w prezentowanych badaniach była sałata masłowa (*Lactuca sativa* L.).

Plan badań, opracowane założenia metodyczne oraz sposób realizacji prac eksperymentalnych pozwolił na weryfikację sformułowanych hipotez badawczych. Potwierdzono, iż charakterystyka i właściwości nawozowe wytworzonej biomasy mikroglonów i sinic pozwalają na jej wykorzystanie do poprawienia właściwości testowanych w eksperymentach symulantów regolitów pozaziemskich. Stwierdzono, iż zarówno biomasę mikroglonów, jak i sinic charakteryzował wysoki poziom zawartości azotu i węgla, a także satysfakcjonujące, z punktu widzenia zasilania tych podłoży, koncentracje fosforu i potasu.

W większości testowanych symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych uzyskano poprawienie efektów końcowych uprawy *Lactuca sativa* L. po wprowadzeniu do podłoża biomasy mikroglonów i sinic. Wyjątkiem był jeden z symulantów regolitu marsjańskiego, gdzie brak wpływu testowanego sposobu nawożenia na wzrost rośliny wskaźnikowej można tłumaczyć charakterystyką chemiczną mającą bezpośredni negatywny wpływ na procesy fizjologiczne roślin, w tym pobieranie składników odżywczych i metabolizm komórkowy, co prowadziło do zahamowania wzrostu.

Poniżej przedstawiono najważniejsze wnioski wynikające z zakresu przeprowadzonych badań i prac eksperymentalnych:

- Stwierdzono, iż ścieki bytowe mogą być stosowane jako medium hodowlane do produkcji biomasy mikroglonów *C. vulgaris* oraz sinic *A. platensis*. Niezależnie od stosowanych ścieków końcowe stężenie biomasy obu testowanych gatunków drobnoustrojów było zbliżone. W przypadku *C. vulgaris* wynosiło kolejno 1020 ± 43 mg s.m.o./dm³ podczas testowania ścieków modelowych oraz 1270 ± 110 mg s.m.o./dm³, gdy medium hodowlanym były ścieki rzeczywiste. W procesie hodowli biomasy *A. platensis* notowano odpowiednio 990 ± 32 mg s.m.o./dm³ oraz 1170 ± 59 mg s.m.o./dm³.

- W procesie produkcji biomasy *C. vulgaris* efektywność usuwania związków azotu i fosforu z medium hodowlanego wynosiła powyżej 90% nienależnie od faktu czy medium hodowlane preparowano na bazie modelowych czy rzeczywistych ścieków bytowych. Istotne różnice w wydajności stwierdzono podczas usuwania związków organicznych (ChZT), było to kolejno $76,4 \pm 3,5\%$ oraz $32,3 \pm 8,1\%$. Przyrastająca biomasa *A. platensis* prócz wysokiej skuteczności usuwania związków biogennych z testowanych ścieków charakteryzowała się istotnie wyższymi zdolnościami biodegradacji rozpuszczonej materii organicznej. Usunięcie ChZT kształtowało się na poziomie $83,4 \pm 6,4\%$ w przypadku ścieków syntetycznych oraz $50,5 \pm 10,8\%$ dla rzeczywistych ścieków bytowych.
- Stwierdzono, iż zawartość azotu, fosforu i potasu w wyprodukowanej biomase mieściła się w wąskich granicach i wynosiła kolejno: $83,1 \pm 2,3$ - $85,1 \pm 1,4$ gN/kg s.m., $15,4 \pm 3,5$ - $17,5 \pm 2,0$ gP/kg s.m oraz $8,2 \pm 1,9$ - $8,6 \pm 2,1$ gK/kg s.m., w zależności od wariantu hodowli i testowanego gatunku mikroorganizmów, co jest poziomem porównywalnym z innymi naturalnymi nawozami organicznymi. Zawartość węgla organicznego kształtowała się w zakresie od $470,7 \pm 61,9$ do $502,4 \pm 31,1$ gC/kg s.m., co jest stężeniem porównywalnym, a nawet wyższym niż posiadają naturalne nawozy organiczne.
- Badania udowodniły, iż w większości przypadków testowanych symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych uzyskiwane plony *Lactuca sativa* L. charakteryzowane plonem biomasy części nadziemnej i podziemnej rosły najefektywniej w zakresie stosowanych dawek od 5 g/kg s.m. do 10 g/kg s.m.. W większości przypadków podniesienie ilości biomasy mikroglonów *C. vulgaris* oraz sinic *A. platensis* wprowadzanej do testowanego podłoża nie miało istotnego wpływu na wzrost uzyskiwanego plonu, na co wskazuje przeprowadzona analiza korelacji.
- Wyjątek stanowił symulant regolitu marsjańskiego o symbolu MGS-1, gdzie niezależnie od stosowanego wariantu nawożenia nie stwierdzono wzrostu testowanej rośliny wskaźnikowej. Obserwowane trudności w uprawie *Lactuca sativa* L. w tym wariantcie eksperymentalnym można tłumaczyć wysoką koncentracją nadchloranów i soli, mająca bezpośredni negatywny wpływ na procesy fizjologiczne roślin, w tym pobieranie składników odżywczych i metabolizm komórkowy, co prowadziło do zahamowania wzrostu.
- Najwyższy plon części nadziemnej oraz podziemnej *Lactuca sativa* L. wynoszący kolejno $1,571 \pm 0,2306$ g ś.m. i $0,159 \pm 0,0070$ g ś.m. dla *C. vulgaris* oraz $1,819 \pm 0,1843$ g ś.m. i $0,252 \pm 0,0535$ g ś.m. dla *A. platensis* uzyskano na podłożu stanowiącym glebę ogrodową

- (kontrola, D10). Najniższy natomiast, gdy biomasa *C. vulgaris* zasilano regolit księżycowy o symbolu AGK-2010, gdzie plonowanie rośliny wskaźnikowej wynosiło $0,053 \pm 0,0128$ g ś.m. dla części nadziemnej i $0,009 \pm 0,0041$ g ś.m. dla korzeni (D5).
- Symulantem regolitu, wykorzystanie którego charakteryzowało się uzyskaniem najwyższych plonów *Lactuca sativa* L. był symulant podłoża księżycowego o symbolu JSC-1A, uprzednio kilkakrotnie wykorzystany w cyklach uprawowych. W tym wariancie uzyskano $1,088 \pm 0,1882$ g ś.m. dla części nadziemnej oraz $0,163 \pm 0,0415$ g ś.m. części podziemnej podczas stosowania *A. platensis*. Wskazuje to na możliwość sukcesywnego zwiększania wydajności upraw na podłożach pozaziemskich z każdym kolejnym cyklem produkcyjnym. Zaobserwowana poprawa wydajności plonowania w tym wariancie może być przypisana obecnością w podłożu materii organicznej pochodzącą z resztek roślinnych i mikrobiologicznej aktywności towarzyszącej wcześniejszym cyklom uprawowym. Zgromadzona materia organiczna, stanowiąca źródło łatwo dostępnych form węgla, azotu oraz innych biopierwiastków, mogła przyczynić się do poprawy właściwości fizykochemicznych symulanta, w tym retencji wody, struktury agregatowej oraz dostępności składników mineralnych.
 - Zastosowanie magnetycznej separacji związków ferromagnetycznych z symulanta regolitu księżycowego JSC-1A istotnie zwiększyło jego rolniczą użyteczność. Uzyskany plon był ponad dwukrotnie wyższy w porównaniu do podłoża bez wstępnego przygotowania. W związku z tym można stwierdzić, że frakcja symulanta regolitu księżycowego pozostała po magnetycznej separacji może być efektywnie wykorzystana na potrzeby uprawy roślin.

9. Literatura

- Abdelfattah, A., Ali, S. S., Ramadan, H., El-Aswar, E. I., Eltawab, R., Ho, S.-H., Elsamahy, T., Li, S., El-Sheekh, M. M., Schagerl, M., Kornaros, M., i Sun, J. (2023). Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. *Environmental Science and Ecotechnology*, 13, 100205. <https://doi.org/10.1016/j.es.2022.100205>
- Abinandan, S., i Shanthakumar, S. (2015). Challenges and opportunities in application of microalgae (Chlorophyta) for wastewater treatment: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 52, 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.07.086>
- Abinandan, S., Subashchandrabose, S. R., Venkateswarlu, K., i Megharaj, M. (2019). Soil microalgae and cyanobacteria: the biotechnological potential in the maintenance of soil fertility and health. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(8), 981–998. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1654972>
- Abuye, F., i Achamo, B. (2016). Potential Use of Cyanobacterial Bio-fertilizer on Growth of Tomato Yield Components and Nutritional Quality on Grown Soils Contrasting pH. 6(17). www.iiste.org
- Ahmed, Z. F. R., Alnuaimi, A. K. H., Askri, A., i Tzortzakis, N. (2021). Evaluation of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Production under Hydroponic System: Nutrient Solution Derived from Fish Waste vs. Inorganic Nutrient Solution. *Horticulturae*, 7(9), 292. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7090292>
- Aikawa, S., Izumi, Y., Matsuda, F., Hasunuma, T., Chang, J.-S., i Kondo, A. (2012). Synergistic enhancement of glycogen production in *Arthrospira platensis* by optimization of light intensity and nitrate supply. *Bioresource Technology*, 108, 211–215. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.004>
- Al Sherif, E. A., Sayed Abdel-Hameed, M., i Ali, H. (2015). Use of Cyanobacteria and Organic Fertilizer Mixture as Soil Bioremediation. <https://doi.org/10.5829/idosi.aej.2015.15.5.93245>
- Alam, M., Sarkar, I., Chanda, N., Ghosh, S., i Loha, C. (2024). Enhancing syngas production and hydrogen content in syngas from catalytic slow pyrolysis of biomass in a pilot scale fixed bed reactor. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-05453-0>
- Alazaiza, M. Y. D., He, S., Su, D., Abu Amr, S. S., Toh, P. Y., i Bashir, M. J. K. (2023). Sewage Water Treatment Using *Chlorella Vulgaris* Microalgae for Simultaneous Nutrient Separation and Biomass Production. *Separations*, 10(4), 229. <https://doi.org/10.3390/separations10040229>
- Aliyu, A., Lee, J. G. M., i Harvey, A. P. (2021). Microalgae for biofuels: A review of thermochemical conversion processes and associated opportunities and challenges. *Bioresource Technology Reports*, 15, 100694. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100694>

- Almomani, F., Al Ketife, A., Judd, S., Shurair, M., Bhosale, R. R., Znad, H., i Tawalbeh, M. (2019). Impact of CO₂ concentration and ambient conditions on microalgal growth and nutrient removal from wastewater by a photobioreactor. *Science of The Total Environment*, 662, 662–671. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.144>
- Alshibli, K. A., i Hasan, A. (2009). Strength Properties of JSC-1A Lunar Regolith Simulant. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 135(5), 673–679. [https://doi.org/10.1061/\(asce\)gt.1943-5606.0000068](https://doi.org/10.1061/(asce)gt.1943-5606.0000068)
- Alvarenga, P., Martins, M., Ribeiro, H., Mota, M., Guerra, I., Cardoso, H., i Silva, J. L. (2023). Evaluation of the fertilizer potential of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* grown in agricultural drainage water from maize fields. *Science of The Total Environment*, 861, 160670. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160670>
- Alvarez, A. L., Weyers, S. L., Goemann, H. M., Peyton, B. M., i Gardner, R. D. (2021). Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. *Algal Research*, 54, 102200. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102200>
- Ammar, E. E., Aioub, A. A. A., Elesawy, A. E., Karkour, A. M., Mouhamed, M. S., Amer, A. A., i EL-Shershaby, N. A. (2022). Algae as Bio-fertilizers: Between current situation and future prospective. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3083–3096. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.020>
- Aziz, M., Darmawan, A., i Juangsa, F. B. (2021). Hydrogen production from biomasses and wastes: A technological review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(68), 33756–33781. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.07.189>
- Azni, M. A., Md Khalid, R., Hasran, U. A., i Kamarudin, S. K. (2023). Review of the Effects of Fossil Fuels and the Need for a Hydrogen Fuel Cell Policy in Malaysia. *Sustainability*, 15(5), 4033. <https://doi.org/10.3390/su15054033>
- Babu, S., Bidyarani, N., Chopra, P., Monga, D., Kumar, R., Prasanna, R., Kranthi, S., i Saxena, A. K. (2015). Evaluating microbe-plant interactions and varietal differences for enhancing biocontrol efficacy in root rot disease challenged cotton crop. *European Journal of Plant Pathology*, 142(2), 345–362. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0619-6>
- Bahlmann, J., Saidani, M., Franzese, V., Stoll, E., i Hein, A. (2024). Space and the Circular Economy: Exploring Expert Perceptions. W 75 th International Astronautical Congress (IAC).
- Barbosa, G., Gadelha, F., Kublik, N., Proctor, A., Reichelm, L., Weissinger, E., Wohlleb, G., i Halden, R. (2015). Comparison of Land, Water, and Energy Requirements of Lettuce Grown Using Hydroponic vs. Conventional Agricultural Methods. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(6), 6879–6891. <https://doi.org/10.3390/ijerph120606879>
- Battler, M. M., i Spray, J. G. (2009). The Shawmere anorthosite and OB-1 as lunar highland regolith simulants. *Planetary and Space Science*, 57(14–15), 2128–2131. <https://doi.org/10.1016/j.pss.2009.09.003>

- Bechtaoui, N., Rabiou, M. K., Raklami, A., Oufdou, K., Hafidi, M., i Jemo, M. (2021). Phosphate-Dependent Regulation of Growth and Stresses Management in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.679916>
- Bednarz, S., Rzychniak, M., Gonet, A., i Seweryn, K. (2013). Research of formed lunar regolith analog AGK-2010. *Archives of Mining Sciences*, 58(2), 551–556. <https://doi.org/10.2478/amsc-2013-0037>
- Benamins, R., i Scheres, B. (2008). Auxin: The Looping Star in Plant Development. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 443–465. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.58.032806.103805>
- Beuckels, A., Smolders, E., i Muylaert, K. (2015). Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. *Water Research*, 77, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.03.018>
- Bhattarai, B., Datta, C., K.M., S., A.S., D., Nair, K., i Seen, A. (2022). Design and Analysis of Lunar Rover Wheels Using Finite Element Modelling. *ECS Transactions*, 107(1), 3769–3780. <https://doi.org/10.1149/10701.3769ecst>
- Blake, D. F., Morris, R. V., Kocurek, G., Morrison, S. M., Downs, R. T., Bish, D., Ming, D. W., Edgett, K. S., Rubin, D., Goetz, W., Madsen, M. B., Sullivan, R., Gellert, R., Campbell, I., Treiman, A. H., McLennan, S. M., Yen, A. S., Grotzinger, J., Vaniman, D. T., ... Zorzano Mier, M.-P. (2013). Curiosity at Gale Crater, Mars: Characterization and Analysis of the Rocknest Sand Shadow. *Science*, 341(6153). <https://doi.org/10.1126/science.1239505>
- Bora, A., Thondi Rajan, A. S., Ponnuchamy, K., Muthusamy, G., i Alagarsamy, A. (2024). Microalgae to bioenergy production: Recent advances, influencing parameters, utilization of wastewater – A critical review. *Science of The Total Environment*, 946, 174230. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174230>
- Boukis, N., i Stoll, I. K. (2021). Gasification of Biomass in Supercritical Water, Challenges for the Process Design—Lessons Learned from the Operation Experience of the First Dedicated Pilot Plant. *Processes*, 9(3), 455. <https://doi.org/10.3390/pr9030455>
- Boyce, S. P., Pasadilla, P., Tewes, P., Joyce, C. J., Wilson, J. P., Williamson, J., i Toon, K. (2023). Brine Processor Assembly: A Year of Successful Operation on the International Space Station.
- Brückner, J., Dreibus, G., Gellert, R., Squyres, S. W., Wänke, H., Yen, A., i Zipfel, J. (2008). Mars Exploration Rovers: chemical composition by the APXS. *W The Martian Surface* (s. 58–102). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511536076.005>
- Cai, W., Zhao, Z., Li, D., Lei, Z., Zhang, Z., i Lee, D.-J. (2019). Algae granulation for nutrients uptake and algae harvesting during wastewater treatment. *Chemosphere*, 214, 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.107>
- Cakmak, I. (2005). The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 521–530. <https://doi.org/10.1002/jpln.200420485>

- Cañavate, J. P., Armada, I., i Hachero-Cruzado, I. (2017). Interspecific variability in phosphorus-induced lipid remodelling among marine eukaryotic phytoplankton. *New Phytologist*, 213(2), 700–713. <https://doi.org/10.1111/nph.14179>
- Cantrell, K. B., Ducey, T., Ro, K. S., i Hunt, P. G. (2008). Livestock waste-to-bioenergy generation opportunities. *Bioresource Technology*, 99(17), 7941–7953. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.061>
- Cao, G., Concas, A., Orrù, R., Licheri, R., Sani, E., Dell’Oro, A., Fais, G., Manis, C., Manca, A., Uras, G., Caboni, P., Locci, A. M., Cincotti, A., Lai, N., Congiu, T., Faa, G., Pisu, M., Brelstaff, G., i Pantaleo, A. (2023). Recent advances on ISRU technologies and study of microgravity impact on blood cells for deep space exploration. *Frontiers in Space Technologies*, 4. <https://doi.org/10.3389/frspt.2023.1146461>
- Caporale, A. G., Paradiso, R., Liuzzi, G., Palladino, M., Amitrano, C., Arena, C., Arouna, N., Verrillo, M., Cozzolino, V., De Pascale, S., i Adamo, P. (2023). Green compost amendment improves potato plant performance on Mars regolith simulant as substrate for cultivation in space. *Plant and Soil*, 486(1–2), 217–233. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05860-0>
- Caporale, A. G., Vingiani, S., Palladino, M., El-Nakhel, C., Duri, L. G., Pannico, A., Rouphael, Y., De Pascale, S., i Adamo, P. (2020). Geo-mineralogical characterisation of Mars simulant MMS-1 and appraisal of substrate physico-chemical properties and crop performance obtained with variable green compost amendment rates. *Science of the Total Environment*, 720, 137543. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137543>
- Cardias, B. B., Barceló-Villalobos, M., Lafarga, T., Acién Fernández, F. G., Morais, M. G., i Costa, J. A. V. (2023). An overall analysis of CO₂ demand and utilization of microalgal cultures in pilot-scale raceway reactors. *Algal Research*, 74, 103197. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103197>
- Castro, J. de S., Calijuri, M. L., Assemany, P. P., Cecon, P. R., de Assis, I. R., i Ribeiro, V. J. (2017). Microalgae biofilm in soil: Greenhouse gas emissions, ammonia volatilization and plant growth. *Science of The Total Environment*, 574, 1640–1648. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.205>
- Cavalier-Smith, T. (2004). Only six kingdoms of life. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(1545), 1251–1262. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2705>
- Cezare-Gomes, E. A., Mejia-da-Silva, L. del C., Pérez-Mora, L. S., Matsudo, M. C., Ferreira-Camargo, L. S., Singh, A. K., i de Carvalho, J. C. M. (2019). Potential of Microalgae Carotenoids for Industrial Application. *W Applied Biochemistry and Biotechnology* (T. 188, Numer 3, s. 602–634). Humana Press Inc. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-02945-4>
- Chang, B. C., i Ann, K. Y. (2019). Development of assessment methods of lunar soil simulants with respect to chemical composition. *Advances in Space Research*, 63(8), 2584–2597. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2019.01.015>
- Chaos-Hernández, D., Reynel-Ávila, H. E., Bonilla-Petriciolet, A., i Villalobos-Delgado, F. J. (2023). Extraction methods of algae oils for the production of third generation biofuels –

- A review. *Chemosphere*, 341, 139856.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139856>
- Chapman, R. L. (2013). Algae: The world's most important „plants”-an introduction. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 18(1), 5–12.
<https://doi.org/10.1007/s11027-010-9255-9>
- Chatterjee, A., Singh, S., Agrawal, C., Yadav, S., Rai, R., i Rai, L. C. (2017). Role of Algae as a Biofertilizer. *Algal Green Chemistry: Recent Progress in Biotechnology*, December, 189–200. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63784-0.00010-2>
- Chatzistathis, T., Zoukidis, K., Vasilikiotis, C., Apostolidis, A., Giannakoula, A. E., Bountla, A., i Chatziathanasiadis, A. (2024). Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungi May Improve Soil Fertility and the Growth, Nutrient Uptake, and Physiological Performance of Batavia Lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*) Plants. *Horticulturae*, 10(5), 449.
<https://doi.org/10.3390/horticulturae10050449>
- Chavan, R., i Mutnuri, S. (2019). Tertiary treatment of domestic wastewater by *Spirulina platensis* integrated with microalgal biorefinery. *Biofuels*, 10(1), 33–44.
<https://doi.org/10.1080/17597269.2018.1461509>
- Chen, M., Goyal, R., Majji, M., i Skelton, R. E. (2021). Review of space habitat designs for long term space explorations. *Progress in Aerospace Sciences*, 122, 100692.
<https://doi.org/10.1016/j.paerosci.2020.100692>
- Chen, Y., i Xu, C. (2020). Exploring New Blue Carbon Plants for Sustainable Ecosystems. *Trends in Plant Science*, 25(11), 1067–1070.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.07.016>
- Chernova, N., Kiseleva, S., Vlaskin, M., Grigorenko, A., i Chunzhuk, E. (2024). Capture CO₂ from flue gases during the cultivation of cyanobacteria/microalgae *Arthrospira platensis*. *E3S Web of Conferences*, 555, 03002. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202455503002>
- Chittapun, S., Limbipichai, S., Amnuaysin, N., Boonkerd, R., i Charoensook, M. (2018). Effects of using cyanobacteria and fertilizer on growth and yield of rice, Pathum Thani I: a pot experiment. *Journal of Applied Phycology*, 30(1), 79–85.
<https://doi.org/10.1007/s10811-017-1138-y>
- Chiu, S.-Y., Kao, C.-Y., Chen, C.-H., Kuan, T.-C., Ong, S.-C., i Lin, C.-S. (2008). Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresource Technology*, 99(9), 3389–3396.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.013>
- Chiu, S.-Y., Kao, C.-Y., Huang, T.-T., Lin, C.-J., Ong, S.-C., Chen, C.-D., Chang, J.-S., i Lin, C.-S. (2011). Microalgal biomass production and on-site bioremediation of carbon dioxide, nitrogen oxide and sulfur dioxide from flue gas using *Chlorella* sp. cultures. *Bioresource Technology*, 102(19), 9135–9142.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.091>
- Chunzhuk, E. A., Grigorenko, A. V., Kiseleva, S. V., Chernova, N. I., Volkov, D. A., Nurgaliev, R. G., Leng, L., Kumar, V., i Vlaskin, M. S. (2024). Features of the

- Microalgae and Cyanobacteria Growth in the Flue Gas Atmosphere with Different CO₂ Concentrations. *Sustainability*, 16(16), 7075. <https://doi.org/10.3390/su16167075>
- Clark, B. C., Baird, A. K., Weldon, R. J., Tsusaki, D. M., Schnabel, L., i Candelaria, M. P. (1982). Chemical composition of Martian fines. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*, 87(B12), 10059–10067. <https://doi.org/10.1029/jb087ib12p10059>
- Clark, J. V., Archer, P. D., Gruener, J. E., Ming, D. W., Tu, V. M., Niles, P. B., i Mertzman, S. A. (2020). JSC-Rocknest: A large-scale Mojave Mars Simulant (MMS) based soil simulant for in-situ resource utilization water-extraction studies. *Icarus*, 351, 113936. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2020.113936>
- Coates, J. D., i Achenbach, L. A. (2004). Microbial perchlorate reduction: rocket-fuelled metabolism. *Nature Reviews Microbiology*, 2(7), 569–580. <https://doi.org/10.1038/nrmicro926>
- Colica, G., Li, H., Rossi, F., Li, D., Liu, Y., i De Philippis, R. (2014). Microbial secreted exopolysaccharides affect the hydrological behavior of induced biological soil crusts in desert sandy soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 68, 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.09.017>
- Condor, B. E., de Luna, M. D. G., Lacson, C. F. Z., Acebu, P. I. G., Abarca, R. R. M., Nagarajan, D., Lee, D.-J., i Chang, J.-S. (2024). Effects of carbon dioxide concentration and swine wastewater on the cultivation of *Chlorella vulgaris* FSP-E and bioethanol production from microalgae biomass. *Applied Energy*, 369, 123617. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2024.123617>
- Coronado-Reyes, J. A., Salazar-Torres, J. A., Juárez-Campos, B., i González-Hernández, J. C. (2022). *Chlorella vulgaris*, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review. *W Food Science and Technology (Brazil)* (T. 42). Sociedade Brasileira de Ciencia e Tecnologia de Alimentos, SBCTA. <https://doi.org/10.1590/fst.37320>
- Creech, S., Guidi, J., i Elburn, D. (2022). Artemis: An Overview of NASA's Activities to Return Humans to the Moon. 2022 IEEE Aerospace Conference (AERO), 1–7. <https://doi.org/10.1109/AERO53065.2022.9843277>
- Cull, S. C., Arvidson, R. E., Catalano, J. G., Ming, D. W., Morris, R. V., Mellon, M. T., i Lemmon, M. (2010). Concentrated perchlorate at the Mars Phoenix landing site: Evidence for thin film liquid water on Mars. *Geophysical Research Letters*, 37(22). <https://doi.org/10.1029/2010GL045269>
- da Fontoura, J. T., Rolim, G. S., Farenzena, M., i Gutterres, M. (2017). Influence of light intensity and tannery wastewater concentration on biomass production and nutrient removal by microalgae *Scenedesmus* sp. *Process Safety and Environmental Protection*, 111, 355–362. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.07.024>
- Dai, L., Yu, P., Ma, P., Chen, C., Ma, J., Zhang, J., Huang, B., Xin, Z., Zheng, X., i Tang, T. (2024). Effects of the supernatant of *Chlorella vulgaris* cultivated under different culture modes on lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth. *Frontiers in Nutrition*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1437374>

- Davey, M. C., i Clarke, K. J. (1991). The spatial distribution of microalgae on Antarctic fellfield soils. *Antarctic Science*, 3(3), 257–263. <https://doi.org/10.1017/S0954102091000317>
- Davey, M. P., Norman, L., Sterk, P., Huete-Ortega, M., Bunbury, F., Loh, B. K. W., Stockton, S., Peck, L. S., Convey, P., Newsham, K. K., i Smith, A. G. (2019). Snow algae communities in Antarctica: metabolic and taxonomic composition. *New Phytologist*, 222(3), 1242–1255. <https://doi.org/10.1111/nph.15701>
- Davila, A. F., Willson, D., Coates, J. D., i McKay, C. P. (2013). Perchlorate on Mars: a chemical hazard and a resource for humans. *International Journal of Astrobiology*, 12(4), 321–325. <https://doi.org/10.1017/S1473550413000189>
- de Mendonça, H. V., Ometto, J. P. H. B., Otenio, M. H., Marques, I. P. R., i dos Reis, A. J. D. (2018). Microalgae-mediated bioremediation and valorization of cattle wastewater previously digested in a hybrid anaerobic reactor using a photobioreactor: Comparison between batch and continuous operation. *Science of the Total Environment*, 633, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.157>
- de Morais, M. G., i Costa, J. A. V. (2007). Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. *Energy Conversion and Management*, 48(7), 2169–2173. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2006.12.011>
- De Schamphelaire, L., i Verstraete, W. (2009). Revival of the biological sunlight-to-biogas energy conversion system. *Biotechnology and Bioengineering*, 103(2), 296–304. <https://doi.org/10.1002/bit.22257>
- De Vera, J. P., Alawi, M., Backhaus, T., Baqué, M., Billi, D., Böttger, U., Berger, T., Bohmeier, M., Cockell, C., Demets, R., De La Torre Noetzel, R., Edwards, H., Elsaesser, A., Fagliarone, C., Fiedler, A., Foing, B., Foucher, F., Fritz, J., Hanke, F., ... Zucconi, L. (2019). Limits of Life and the Habitability of Mars: The ESA Space Experiment BIOMEX on the ISS. *W Astrobiology* (T. 19, Numer 2, s. 145–157). Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/ast.2018.1897>
- Debnath, C., Bandyopadhyay, T. K., Bhunia, B., Mishra, U., Narayanasamy, S., i Muthuraj, M. (2021). Microalgae: Sustainable resource of carbohydrates in third-generation biofuel production. *W Renewable and Sustainable Energy Reviews* (T. 150). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111464>
- Demirbas, M. F. (2011). Biofuels from algae for sustainable development. *Applied Energy*, 88(10), 3473–3480. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.01.059>
- Dębowski, M., Korzeniewska, E., Filipkowska, Z., Zieliński, M., i Kwiatkowski, R. (2014). Possibility of hydrogen production during cheese whey fermentation process by different strains of psychrophilic bacteria. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(5), 1972–1978. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.11.082>
- Dębowski, M., Zieliński, M., Kisiełowska, M., Kazimierowicz, J., Dudek, M., Świca, I., i Rudnicka, A. (2020). The Cultivation of Lipid-Rich Microalgae Biomass as Anaerobic Digestate Valorization Technology—A Pilot-Scale Study. *Processes*, 8(5), 517. <https://doi.org/10.3390/pr8050517>

- Dębowski, M., Zieliński, M., Kupeczyk, K., Rokicka, M., i Hajduk, A. (2015). Effect of taxonomic diversification of microalgae harvested from eutrophicated reservoirs on the chemical composition of biomass and effectiveness of methane fermentation. *Environmental Progress i Sustainable Energy*, 34(3), 858–865. <https://doi.org/10.1002/ep.12038>
- Dębowski, M., Zieliński, M., Świca, I., i Kazimierowicz, J. (2021). Algae Biomass as a Potential Source of Liquid Fuels. *Phycology*, 1(2), 105–118. <https://doi.org/10.3390/phyecology1020008>
- Dębowski, M., Zieliński, M., Vdovychenko, A., i Kazimierowicz, J. (2024). The Use of the Autotrophic Culture of *Arthrospira platensis* for CO₂ Fixation from Biogas Combustion. *Processes*, 12(2), 396. <https://doi.org/10.3390/pr12020396>
- Dineshkumar, R., Kumaravel, R., Gopalsamy, J., Sikder, M. N. A., i Sampathkumar, P. (2018). Microalgae as Bio-fertilizers for Rice Growth and Seed Yield Productivity. *Waste and Biomass Valorization*, 9(5), 793–800. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9873-5>
- Ding, J., Xu, Y., Tan, J., Zhang, H., Xiong, X., Mei, C., Li, M., i Xie, G. (2024). How to make lunar soil suitable for cultivation? – A review. *W Science of the Total Environment* (T. 948). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174603>
- Do Nascimento, M., Battaglia, M. E., Sanchez Rizza, L., Ambrosio, R., Arruebarrena Di Palma, A., i Curatti, L. (2019). Prospects of using biomass of N₂-fixing cyanobacteria as an organic fertilizer and soil conditioner. *Algal Research*, 43. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101652>
- Dobney, W., Mols, L., Mistry, D., Tabury, K., Baselet, B., i Baatout, S. (2023). Evaluation of deep space exploration risks and mitigations against radiation and microgravity. *Frontiers in Nuclear Medicine*, 3. <https://doi.org/10.3389/fnume.2023.1225034>
- Dou, X., Zhang, J., Zhang, C., Ma, D., Chen, L., Zhou, G., Li, J., i Duan, Y. (2023). Calcium carbonate regulates soil organic carbon accumulation by mediating microbial communities in northern China. *CATENA*, 231, 107327. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2023.107327>
- Duri, L. G., Pannico, A., Petropoulos, S. A., Caporale, A. G., Adamo, P., Graziani, G., Ritieni, A., De Pascale, S., i Roupheal, Y. (2022). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Lettuce Grown in Different Mixtures of Monogastric-Based Manure With Lunar and Martian Soils. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.890786>
- Eichler, A., Hadland, N., Pickett, D., Masaitis, D., Handy, D., Perez, A., Batchelder, D., Wheeler, B., i Palmer, A. (2021). Challenging the agricultural viability of martian regolith simulants. *Icarus*, 354, 114022. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2020.114022>
- Erickson, A. S. (2020). Lessons from the Lunar Module Program: The Director's Conclusions. *Acta Astronautica*, 177, 514–536. <https://doi.org/10.1016/j.actaastro.2020.06.030>

- Espinosa-Ortiz, E. J., Gerlach, R., Peyton, B. M., Roberson, L., i Yeh, D. H. (2023). Biofilm reactors for the treatment of used water in space: potential, challenges, and future perspectives. *Biofilm*, 6, 100140. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2023.100140>
- Etym Online <https://www.etymonline.com>, (data dostępu: 16.06.2025r.)
- Ewert, M., i Stromgren, C. (2019). Astronaut Mass Balance for Long Duration Missions. 49th International Conference on Environmental Systems, July, 1–8. <https://ttu-ir.tdl.org/handle/2346/84881>
- Eyidogan, F., Oz, M. T., Yucel, M., i Oktem, H. A. (2012). Signal Transduction of Phytohormones Under Abiotic Stresses. W *Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants* (s. 1–48). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-25829-9_1
- Fackrell, L. E., Humphrey, S., Loureiro, R., Palmer, A. G., i Long-Fox, J. (2024). Overview and recommendations for research on plants and microbes in regolith-based agriculture. *npj Sustainable Agriculture*, 2(1), 15. <https://doi.org/10.1038/s44264-024-00013-5>
- Fackrell, L. E., Schroeder, P. A., Thompson, A., Stockstill-Cahill, K., i Hibbitts, C. A. (2021). Development of martian regolith and bedrock simulants: Potential and limitations of martian regolith as an in-situ resource. *Icarus*, 354, 114055. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2020.114055>
- Faheed, F. A., i Abd-el Fattah, Z. (2008). Effect of *Chlorella vulgaris* as Bio-fertilizer on Growth Parameters and Metabolic Aspects of Lettuce Plant. *J. Agri. Soc. Sci*, 4, 165–169. <http://www.fspublishers.org>
- Fan, X., Zhou, X., Chen, H., Tang, M., i Xie, X. (2021). Cross-Talks Between Macro- and Micronutrient Uptake and Signaling in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.663477>
- Fang, T., Cao, H., Wang, Y., Gong, Y., i Wang, Z. (2023). Global Scientific Trends on Healthy Eating from 2002 to 2021: A Bibliometric and Visualized Analysis. *Nutrients*, 15(6), 1461. <https://doi.org/10.3390/nu15061461>
- Ferreira, A., Bastos, C. R. V., Marques-dos-Santos, C., Acién-Fernandez, F. G., i Gouveia, L. (2023). Algaeculture for agriculture: from past to future. *Frontiers in Agronomy*, 5. <https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1064041>
- Fisher, K. E., Saban, K. E., Broddrick, J. T., i Settles, A. M. (2024). Space Algae-2 Ground and Lunar Analog Studies in Preparation for Long-Duration Propagation of Cyanobacteria in Spaceflight.
- Fletcher, C., Van Kranendonk, M., i Oliver, C. (2024). Exogeoconservation of Mars. *Space Policy*, 68, 101627. <https://doi.org/10.1016/j.spacepol.2024.101627>
- Foley, C. N., Economou, T., i Clayton, R. N. (2003). Final chemical results from the Mars Pathfinder alpha proton X-ray spectrometer. *Journal of Geophysical Research: Planets*, 108(E12). <https://doi.org/10.1029/2002JE002019>
- Frossard, E., Crain, G., Giménez de Azcárate Bordóns, I., Hirschvogel, C., Oberson, A., Paille, C., Pellegrini, G., i Udert, K. M. (2024). Recycling nutrients from organic waste for

- growing higher plants in the Micro Ecological Life Support System Alternative (MELiSSA) loop during long-term space missions. *Life Sciences in Space Research*, 40, 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2023.08.005>
- Gałązka, A., i Podleśny, J. (2024). *PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE W ROLNICTWIE I OCHRONIE ŚRODOWISKA MONOGRAFIE I ROZPRAWY NAUKOWE IUNG-PIB Monografie i Rozprawy Naukowe*. <http://www.iung.pulawy.pl>
- Gamal, R., i Shreadah, M. A. (2024). Marine microalgae and their industrial biotechnological applications: A review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 22(4), 100407. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2024.100407>
- García-Galán, M. J., Arashiro, L., Santos, L. H. M. L. M., Insa, S., Rodríguez-Mozaz, S., Barceló, D., Ferrer, I., i Garfí, M. (2020). Fate of priority pharmaceuticals and their main metabolites and transformation products in microalgae-based wastewater treatment systems. *Journal of Hazardous Materials*, 390, 121771. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121771>
- Garcia-Gonzalez, J., i Sommerfeld, M. (2016). Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. *Journal of Applied Phycology*, 28(2), 1051–1061. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0625-2>
- Ge, Z., Zhang, H., Zhang, Y., Yan, C., i Zhao, Y. (2013). Purifying synthetic high-strength wastewater by microalgae *Chlorella vulgaris* under various light emitting diode wavelengths and intensities. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 11(1), 8. <https://doi.org/10.1186/2052-336X-11-8>
- Gellert, R., Berger, J. A., Boyd, N., Brunet, C., Campbell, J. L., Curry, M., Elliott, B., Fulford, P., Grotzinger, J., Hipkin, V., Hurowitz, J. A., King, P. L., Leshin, L. A., Limonadi, D., Pavri, B., Marchand, G., Perrett, G. M., Scodary, A., Simmonds, J. J., ... MSL Science Team. (2013). Initial MSL APXS Activities and Observations at Gale Crater, Mars. 44th Lunar and Planetary Science Conference, 1432.
- Gisela Detrell, Harald Helisch, Jochen Keppler, Johannes Martin, Norbert Henn, Stefanos Fasoulas, i Reinhold Ewald. (2020). PBR@LSR: the Algae-based Photobioreactor Experiment at the ISS – Operations and Results. *International Conference on Environmental Systems*, ICES20-25.
- Gonçalves, A. L. (2021). The Use of Microalgae and Cyanobacteria in the Improvement of Agricultural Practices: A Review on Their Biofertilising, Biostimulating and Biopesticide Roles. *Applied Sciences*, 11(2), 871. <https://doi.org/10.3390/app11020871>
- Gonçalves, J., Freitas, J., Fernandes, I., i Silva, P. (2023). Microalgae as Biofertilizers: A Sustainable Way to Improve Soil Fertility and Plant Growth. *Sustainability*, 15(16), 12413. <https://doi.org/10.3390/su151612413>
- Gonçalves, R., Wamelink, G. W. W., van der Putten, P., i Evers, J. B. (2024). Intercropping on Mars: A promising system to optimise fresh food production in future martian colonies. *PLOS ONE*, 19(5), e0302149. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0302149>

- Gransee, A., i Führrs, H. (2013). Magnesium mobility in soils as a challenge for soil and plant analysis, magnesium fertilization and root uptake under adverse growth conditions. *Plant and Soil*, 368(1–2), 5–21. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1567-y>
- Gross, J., Mosie, A., Krysher, C., Eckley, S. A., Zeigler, R. A., Mccubbin, F. M., i Shearer, C. (2022). From apollo to artemis: how processing angsa core samples 73001/2 can help to prepare for future sample return missions to the moon and beyond. www.lpi.usra.edu/ANGSA/teams/
- Grzesik, M., i Romanowska-Duda, Z. (2014). Improvements in Germination, Growth, and Metabolic Activity of Corn Seedlings by Grain Conditioning and Root Application with Cyanobacteria and Microalgae. *Polish Journal of Environmental Studies*, 23(4), 1147–1153.
- GUAN, J., LIU, A., XIE, K., SHI, Z., i KUBIKOVA, B. (2020). Preparation and characterization of Martian soil simulant NEU Mars-1. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 30(1), 212–222. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(19\)65193-9](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(19)65193-9)
- Guo, S. S., Mao, R. X., Zhang, L. L., Tang, Y. K., i Li, Y. H. (2017). Progress and prospect of research on controlled ecological life support technique. *REACH*, 6, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.reach.2017.06.002>
- Guo, X., Wang, Q., Wu, Y., Liu, X., i Gong, Z. (2024). Comprehensive insights into microalgae proteins: Nutritional profiles and innovative applications as sustainable alternative proteins in health and food sciences. *Food Hydrocolloids*, 154, 110112. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110112>
- Gupta, P. L., Choi, H.-J., Pawar, R. R., Jung, S. P., i Lee, S.-M. (2016). Enhanced biomass production through optimization of carbon source and utilization of wastewater as a nutrient source. *Journal of Environmental Management*, 184, 585–595. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.10.018>
- Gupta, R., Mishra, N., Singh, G., Mishra, S., i Lodhiyal, N. (2024). Microalgae cultivation and value-based products from wastewater: insights and applications. *Blue Biotechnology*, 1(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s44315-024-00019-1>
- Gutekunst, K., Chen, X., Schreiber, K., Kaspar, U., Makam, S., i Appel, J. (2014). The Bidirectional NiFe-hydrogenase in *Synechocystis* sp. PCC 6803 Is Reduced by Flavodoxin and Ferredoxin and Is Essential under Mixotrophic, Nitrate-limiting Conditions. *Journal of Biological Chemistry*, 289(4), 1930–1937. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.526376>
- Han, X., Zeng, H., Bartocci, P., Fantozzi, F., i Yan, Y. (2018). Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review. *Fermentation*, 4(2), 25. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020025>
- Harish, V., Aslam, S., Chouhan, S., Pratap, Y., i Lalotra, S. (2023). Iron toxicity in plants: A Review. *International Journal of Environment and Climate Change*, 13(8), 1894–1900. <https://doi.org/10.9734/ijecc/2023/v13i82145>

- Harmon, K., Arnold, B., Levesque, M., Johnston, M., Lichten, S., Lock, P., Berry, D., Asmar, S., i Pham, T. (2023). Pre-launch lessons learned from NASA'S deep space network support for the artemis I mission to the moon. *Acta Astronautica*, 210, 589–595. <https://doi.org/10.1016/j.actaastro.2023.05.016>
- Harun, R., Singh, M., Forde, G. M., i Danquah, M. K. (2010). Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(3), 1037–1047. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.11.004>
- Hashtroudi, M. S., Ghassempour, A., Riahi, H., Shariatmadari, Z., i Khanjir, M. (2013). Endogenous auxins in plant growth-promoting Cyanobacteria—*Anabaena vaginicola* and *Nostoc calcicola*. *Journal of Applied Phycology*, 25(2), 379–386. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9872-7>
- Heiken, G. H., Vaniman, D. T., i French, B. M. (1991). *Lunar sourcebook : a user's guide to the Moon*.
- Hejazi, M. A., Holwerda, E., i Wijffels, R. H. (2004). Milking microalga *Dunaliella salina* for β -carotene production in two-phase bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 85(5), 475–481. <https://doi.org/10.1002/bit.10914>
- Horticoop <https://www.horticoop.nl>, (dostęp: 16.06.2025r.)
- Hudeček, M., Nožková, V., Plíhalová, L., i Plíhal, O. (2023). Plant hormone cytokinin at the crossroads of stress priming and control of photosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1103088>
- Hussain, A., Hamayun, M., i Shah, S. T. (2013). Root Colonization and Phytostimulation by Phytohormones Producing Entophytic *Nostoc* sp. AH-12. *Current Microbiology*, 67(5), 624–630. <https://doi.org/10.1007/s00284-013-0408-4>
- Iqbal, W., Head, J. W., van der Bogert, C. H., Frueh, T., Henriksen, M., Bickel, V., Kring, D., Hiesinger, H., Scott, D. R., i Heyer, T. (2024). Slopes along Apollo EVAs: Astronaut experience as input for future mission planning. *Acta Astronautica*. <https://doi.org/10.1016/j.actaastro.2024.07.006>
- Izzati, M., Haryanti, S., i Setiari, N. (2019). The use of macroalga *sargassum* sp. and *Gracilaria verrucosa* in improving sandy and clay soil fertility. *Journal of Physics: Conference Series*, 1217(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1217/1/012179>
- Izzo, L. G., de Vera, J. P. P., i Verseux, C. (2024). Editorial: Presentations at the 2022 MELiSSA conference—current and future ways to closed life support systems. W *Frontiers in Astronomy and Space Sciences* (T. 11). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fspas.2024.1394073>
- Janiak, K., Jurga, A., Wizimirska, A., Miodoński, S., Muszyński-Huhajło, M., Ratkiewicz, K., i Zięba, B. (2021). Urine nitrification robustness for application in space: Effect of high salinity and the response to extreme free ammonia concentrations. *Journal of Environmental Management*, 279, 111610. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111610>

- Janusch, C., Lewin, E. F., Battaglia, M. L., Rezaei-Chiyaneh, E., i Von Cossel, M. (2021). Flower-power in the bioenergy sector – A review on second generation biofuel from perennial wild plant mixtures. W *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (T. 147). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111257>
- Jasser, I., Panou, M., Khomutovska, N., Sandzewicz, M., Panteris, E., Niyatbekov, T., Łach, Ł., Kwiatowski, J., Kokociński, M., i Gkelis, S. (2022). Cyanobacteria in hot pursuit: Characterization of cyanobacteria strains, including novel taxa, isolated from geothermal habitats from different ecoregions of the world. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 170, 107454. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107454>
- Jhala, Y. K., Panpatte, D. G., i Vyas, R. V. (2017). Cyanobacteria: Source of Organic Fertilizers for Plant Growth. W *Microorganisms for Sustainability* (T. 6, s. 253–264). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6241-4_13
- Jin, K., Shen, J., Ashton, R. W., Dodd, I. C., Parry, M. A. J., i Whalley, W. R. (2013). How do roots elongate in a structured soil? *Journal of Experimental Botany*, 64(15), 4761–4777. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert286>
- John, R. P., Anisha, G. S., Nampoothiri, K. M., i Pandey, A. (2011). Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology*, 102(1), 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.139>
- Kaczmarzyk, M. (2024). Zjawiska impaktowe jako nadrzędny proces kształtujący powierzchnię Księżyca. *ACTA SOCIETATIS METHEORITICAE POLONORUM Rocznik Polskiego Towarzystwa Meteorytowego* Vol. 15, s. 56-70
- Kanamori, H., Udagawa, S., Yoshida, T., Matsumoto, S., i Takagi, K. (1889). Properties of lunar soil simulant manufactured in Japan. *Proceedings of the International Symposium Space*, 462–468.
- Kanazawa, S., Ishikawa, Y., Tomita-Yokotani, K., Hashimoto, H., Kitaya, Y., Yamashita, M., Nagatomo, M., Oshima, T., i Wada, H. (2008). Space agriculture for habitation on Mars with hyper-thermophilic aerobic composting bacteria. *Advances in Space Research*, 41(5), 696–700. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2007.09.040>
- Kapoor, R. V., Wood, E. E., i Llewellyn, C. A. (2021). Algae biostimulants: A critical look at microalgal biostimulants for sustainable agricultural practices. *Biotechnology Advances*, 49, 107754. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107754>
- Kasiviswanathan, P., Swanner, E. D., Halverson, L. J., i Vijayapalani, P. (2022). Farming on Mars: Treatment of basaltic regolith soil and briny water simulants sustains plant growth. *PLOS ONE*, 17(8), e0272209. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272209>
- Keller, R., Goli, K., Porter, W., Alrabaa, A., i Jones, J. A. (2023). Cyanobacteria and Algal-Based Biological Life Support System (BLSS) and Planetary Surface Atmospheric Revitalizing Bioreactor Brief Concept Review. *Life*, 13(3), 816. <https://doi.org/10.3390/life13030816>
- Keshari, N., i Adhikary, S. P. (2014). Diversity of cyanobacteria on stone monuments and building facades of India and their phylogenetic analysis. *International Biodeterioration i Biodegradation*, 90, 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.01.014>

- Khan, M. I., Shin, J. H., i Kim, J. D. (2018). The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. W Microbial Cell Factories (T. 17, Numer 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>
- Kholssi, R., Marks, E. A. N., Miñón, J., Montero, O., Debdoubi, A., i Rad, C. (2019). Biofertilizing Effect of *Chlorella sorokiniana* Suspensions on Wheat Growth. Journal of Plant Growth Regulation, 38(2), 644–649. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9879-7>
- Kieber, J. J., i Schaller, G. E. (2014). Cytokinins. The Arabidopsis Book, 12, e0168. <https://doi.org/10.1199/tab.0168>
- Kim, E. J., Kim, S., Choi, H. G., i Han, S. J. (2020). Co-production of biodiesel and bioethanol using psychrophilic microalga *Chlamydomonas* sp. KNM0029C isolated from Arctic sea ice. Biotechnology for Biofuels, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-020-1660-z>
- Kisielewska, M., Dębowski, M., i Zieliński, M. (2023). Comparison of biogas production from anaerobic digestion of microalgae species belonged to various taxonomic groups. Archives of Environmental Protection. <https://doi.org/10.24425/aep.2020.132523>
- Kolman, M. de los A., Miño, M. L., Sadañoski, M. A., i Zapata, P. D. (2024). Biostimulant potential of two agrochemical tolerant microalgae isolated from subtropical clay soil. Journal of Applied Phycology. <https://doi.org/10.1007/s10811-024-03374-z>
- Konečný, P., Katzer, J., Kobaka, J., i Seweryn, K. (2023). Estimation of the Needed Regolith for Covering Lunar Habitat by Protective Layer. Artificial Satellites, 58(s1), 249–255. <https://doi.org/10.2478/arsa-2023-0026>
- Kraiser, T., Gras, D. E., Gutierrez, A. G., Gonzalez, B., i Gutierrez, R. A. (2011). A holistic view of nitrogen acquisition in plants. Journal of Experimental Botany, 62(4), 1455–1466. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq425>
- Kronzucker, H. J., i Britto, D. T. (2011). Sodium transport in plants: a critical review. New Phytologist, 189(1), 54–81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03540.x>
- Krotikov, V. D., i Troitskii, V. S. (1963). Detection of heat flux from lunar depths. Astron. Zh., 40(6), 1076–1082.
- Kumar, L., Anand, R., Shah, M. P., i Bharadvaja, N. (2022). Microalgae biodiesel: A sustainable source of energy, unit operations, technological challenges, and solutions. Journal of Hazardous Materials Advances, 8, 100145. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100145>
- Kumar, N., i Das, D. (2000). Enhancement of hydrogen production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08. Process Biochemistry, 35(6), 589–593. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(99\)00109-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(99)00109-0)
- La Bella, E., Baglieri, A., Rovetto, E. I., Stevanato, P., i Puglisi, I. (2021). Foliar Spray Application of *Chlorella vulgaris* Extract: Effect on the Growth of Lettuce Seedlings. Agronomy, 11(2), 308. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020308>

- Laamanen, C. A., Desjardins, S. M., Senhorinho, G. N. A., i Scott, J. A. (2021). Harvesting microalgae for health beneficial dietary supplements. *Algal Research*, 54, 102189. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102189>
- Landsman, Z. A., Schultz, C. D., Britt, D. T., Peppin, M., Kobrick, R. L., Metzger, P. T., i Orlovskaya, N. (2021). Phobos regolith simulants PGI-1 and PCA-1. *Advances in Space Research*, 67(10), 3308–3327. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2021.01.024>
- Lasseur, C., Brunet, J., Weever, H. De, Dixon, M., Dussap, G., Godia, F., Leys, N., Mergeay, M., i Straeten, D. Van Der. (2010). Melissa: The European project of closed life support system. *Gravitational and Space Biology*, 23(2), 3–12. <http://adsabs.harvard.edu/abs/2006cosp...36.3579L>
- Lasseur, C., Kaplan, D., Mergeay, M., i Audas, C. (2023). THE ATTEMPTS TO CLOSED LIFE SUPPORT SYSTEM DEVELOPMENT, THE EARLY CONTEXT OF MELISSA PROJECT. *Ecological Engineering and Environment Protection*, 2023(2/2023), 5–12. <https://doi.org/10.32006/eeep.2023.2.0512>
- Lee, S. M., i Ryu, C. M. (2021). Algae as New Kids in the Beneficial Plant Microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 12(February), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.599742>
- Lee, S.-Y., Kim, E.-G., Park, J.-R., Ryu, Y.-H., Moon, W., Park, G.-H., Ubaidillah, M., Ryu, S.-N., i Kim, K.-M. (2021). Effect on Chemical and Physical Properties of Soil Each Peat Moss, Elemental Sulfur, and Sulfur-Oxidizing Bacteria. *Plants*, 10(9), 1901. <https://doi.org/10.3390/plants10091901>
- Li, S., Li, F., Zhu, X., Liao, Q., Chang, J.-S., i Ho, S.-H. (2022). Biohydrogen production from microalgae for environmental sustainability. *Chemosphere*, 291, 132717. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132717>
- Li, Y., Liu, J., i Yue, Z. (2009). NAO-1: Lunar Highland Soil Simulant Developed in China. *Journal of Aerospace Engineering*, 22(1), 53–57. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0893-1321\(2009\)22:1\(53\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0893-1321(2009)22:1(53))
- Lichner, L., Hallett, P. D., Drongová, Z., Czachor, H., Kovacik, L., Mataix-Solera, J., i Homolák, M. (2013). Algae influence the hydrophysical parameters of a sandy soil. *CATENA*, 108, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2012.02.016>
- Lin, H.-Y., i Lin, H.-J. (2018). Polyamines in Microalgae: Something Borrowed, Something New. *Marine Drugs*, 17(1), 1. <https://doi.org/10.3390/md17010001>
- Linke, S., Windisch, L., Kueter, N., Wanvik, J. E., Voss, A., Stoll, E., Schilde, C., i Kwade, A. (2020). TUBS-M and TUBS-T based modular Regolith Simulant System for the support of lunar ISRU activities. *Planetary and Space Science*, 180, 104747. <https://doi.org/10.1016/j.pss.2019.104747>
- Liu, G., Dong, Y., Xie, B., Hu, D., Fu, Y., Dong, C., Li, L., i Liu, H. (2016). The regulation of CO₂ levels in a BLSS by controlling the solid waste treatment unit. *Ecological Engineering*, 90, 382–386. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.048>

- Long-Fox, J. M., Landsman, Z. A., Easter, P. B., Millwater, C. A., i Britt, D. T. (2023). Geomechanical properties of lunar regolith simulants LHS-1 and LMS-1. *Advances in Space Research*, 71(12), 5400–5412. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2023.02.034>
- Lorenz, R. D., Martínez, G. M., Spiga, A., Vicente-Retortillo, A., Newman, C. E., Murdoch, N., Forget, F., Millour, E., i Pierron, T. (2021). Lander and rover histories of dust accumulation on and removal from solar arrays on Mars. *Planetary and Space Science*, 207, 105337. <https://doi.org/10.1016/j.pss.2021.105337>
- Lu, X., Zhao, W., Wang, J., He, Y., Yang, S., i Sun, H. (2024). A comprehensive review on the heterotrophic production of bioactive compounds by microalgae. *W World Journal of Microbiology and Biotechnology* (T. 40, Numer 7). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-03892-5>
- Maestre-Valero, J. F., Martin-Gorriz, B., Soto-García, M., Martinez-Mate, M. A., i Martinez-Alvarez, V. (2018). Producing lettuce in soil-based or in soilless outdoor systems. Which is more economically profitable? *Agricultural Water Management*, 206, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.04.022>
- Maltsev, Y., Maltseva, K., Kulikovskiy, M., i Maltseva, S. (2021). Influence of Light Conditions on Microalgae Growth and Content of Lipids, Carotenoids, and Fatty Acid Composition. *Biology*, 10(10), 1060. <https://doi.org/10.3390/biology10101060>
- Mandal, S. M., Chakraborty, D., i Dey, S. (2010). Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *W Plant Signaling and Behavior* (T. 5, Numer 4, s. 359–368). Landes Bioscience. <https://doi.org/10.4161/psb.5.4.10871>
- Markou, G., Chatzipavlidis, I., i Georgakakis, D. (2012). Effects of phosphorus concentration and light intensity on the biomass composition of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(8), 2661–2670. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1076-4>
- Markou, G., Depraetere, O., Vandamme, D., i Muylaert, K. (2015). Cultivation of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* with Recovered Phosphorus from Wastewater by Means of Zeolite Sorption. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(2), 4250–4264. <https://doi.org/10.3390/ijms16024250>
- Mata, T. M., Martins, A. A., i Caetano, Nidia. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217–232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>
- Matyka, M., Krasowicz, S., Kopiński, J., i Madej, A. (2024). Zmiany w produkcji rolniczej na tle uwarunkowań przyrodniczych i polityki Unii Europejskiej. *W Polska wieś i polskie rolnictwo 20 lat w Unii Europejskiej* (s. 251–270). Instytut Rozwoju Wsi i Rolnictwa PAN. https://doi.org/10.53098/978-83-89900-78-4_13
- Mckay, D. S., Carter, J. L., Boles, W. W., Allen, C. C., i Allton, J. H. (1994). JSC-1: A NEW LUNAR SOIL SIMULANT. <http://ares.jsc.nasa.gov/HumanExplore/Exploration/EXLibrary/DOCS/EIC050.HTML>
- Menamo, M., i Wolde, Z. (2013). Effect of Cyanobacteria Application as Biofertilizer on Growth, Yield and Yield Components of Romaine Lettuce (*Lactuca sativa* L.) on Soils of

- Ethiopia. *American Scientific Research Journal for Engineering*, 4(1), 50–58.
<http://asrjetsjournal.org/>
- Meyer, C. (2002). The Lunar Petrographic Educational Thin Section Set.
- Mignogna, D., Szabó, M., Ceci, P., i Avino, P. (2024). Biomass Energy and Biofuels: Perspective, Potentials, and Challenges in the Energy Transition. *Sustainability*, 16(16), 7036. <https://doi.org/10.3390/su16167036>
- Ministerstwo Rozwoju i Technologii. (2024). <https://www.gov.pl/web/rozwoj-technologie/ignis--pierwsza-polska-misja-na-miedzynarodowa-stacje-kosmiczna>, (data dostępu: 16.06.2025r.)
- Misra, G., Smith, W., Garner, M., i Loureiro, R. (2021). Potential Biological Remediation Strategies for Removing Perchlorate from Martian Regolith. *New Space*, 9(4), 217–227. <https://doi.org/10.1089/space.2020.0055>
- Morales-Valenzuela, G., Silva-Rojas, H. V., Ochoa-Martínez, D., Valadez-Moctezuma, E., Alarcón-Zúñiga, B., Zelaya-Molina, L. X., Córdova-Téllez, L., Mendoza-Onofre, L., Vaquera-Huerta, H., Carballo-Carballo, A., Farfán-Gómez, A., i Ávila-Quezada, G. (2007). First Report of *Pantoea agglomerans* Causing Leaf Blight and Vascular Wilt in Maize and Sorghum in Mexico. *Plant Disease*, 91(10), 1365–1365. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-10-1365A>
- Moroz, A., Cheremisin, A., Meshalkin, V., Zhuchenko, A., Kosolapov, V., Semenova, N., i Davydov, V. (2020). On the possibility of growing vegetables and fruits on the lunar base. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 578(1), 012006. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/578/1/012006>
- Mógor, Á. F., de Oliveira Amatussi, J., Mógor, G., i Bocchetti de Lara, G. (2018). Bioactivity of Cyanobacterial Biomass Related to Amino Acids Induces Growth and Metabolic Changes on Seedlings and Yield Gains of Organic Red Beet. *American Journal of Plant Sciences*, 09(05), 966–978. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.95074>
- Mulbry, W., Westhead, E. K., Pizarro, C., i Sikora, L. (2005). Recycling of manure nutrients: Use of algal biomass from dairy manure treatment as a slow release fertilizer. *Bioresource Technology*, 96(4), 451–458. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.05.026>
- Muluneh, M. G. (2021). Impact of climate change on biodiversity and food security: a global perspective—a review article. *W Agriculture and Food Security* (T. 10, Numer 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40066-021-00318-5>
- Mussnug, J. H., Klassen, V., Schlüter, A., i Kruse, O. (2010). Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. *Journal of Biotechnology*, 150(1), 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.07.030>
- Mutale-joan, C., Redouane, B., Najib, E., Yassine, K., Lyamlouli, K., Laila, S., Zeroual, Y., i Hicham, E. A. (2020). Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L. *Scientific Reports*, 10(1), 2820. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59840-4>

- Nagar, S., Singh, V. P., Arora, A., Dhakar, R., Singh, N., Singh, G. P., Meena, S., Kumar, S., i Shiv Ramakrishnan, R. (2021). Understanding the Role of Gibberellic Acid and Paclobutrazol in Terminal Heat Stress Tolerance in Wheat. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.692252>
- Naik, B., Mishra, R., Kumar, V., Mishra, S., Gupta, U., Rustagi, S., Gupta, A. K., Preet, M. S., Bhatt, S. C., i Rizwanuddin, S. (2024). Micro-algae: Revolutionizing food production for a healthy and sustainable future. *Journal of Agriculture and Food Research*, 15, 100939. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100939>
- Nie, C., Pei, H., Jiang, L., Cheng, J., i Han, F. (2018). Growth of large-cell and easily-sedimentation microalgae *Golenkinia SDEC-16* for biofuel production and campus sewage treatment. *Renewable Energy*, 122, 517–525. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.02.005>
- Noga, T., i Kochman-Kędziora, N. (2023). Mikroglony najczęściej wykorzystywane w przemyśle rolno-spożywczym. *Polish Journal for Sustainable Development*, 27(1), 23–35. <https://doi.org/10.15584/pjsd.2023.27.1.3>
- Nur, M. M. A., i Dewi, R. N. (2024). Opportunities and challenges of microalgae in biocement production and self-repair mechanisms. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 56, 103048. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103048>
- Oancea, F., Velea, S., i Fatu, V. (2017). Micro-algae based plant biostimulant and its effect on water stressed tomato plants. <https://www.researchgate.net/publication/318489795>
- Ofoe, R., Thomas, R. H., Asiedu, S. K., Wang-Pruski, G., Fofana, B., i Abbey, Lord. (2023). Aluminum in plant: Benefits, toxicity and tolerance mechanisms. W *Frontiers in Plant Science* (T. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1085998>
- Olabi, A. G., Shehata, N., Sayed, E. T., Rodriguez, C., Anyanwu, R. C., Russell, C., i Abdelkareem, M. A. (2023). Role of microalgae in achieving sustainable development goals and circular economy. *Science of The Total Environment*, 854, 158689. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158689>
- Oliva, G., Buonerba, A., Grassi, A., Hasan, S. W., Korshin, G. V., Zorpas, A. A., Belgiorno, V., Naddeo, V., i Zarra, T. (2024). Microalgae to biodiesel: A novel green conversion method for high-quality lipids recovery and in-situ transesterification to fatty acid methyl esters. *Journal of Environmental Management*, 357, 120830. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120830>
- Osorio-Reyes, J. G., Valenzuela-Amaro, H. M., Pizaña-Aranda, J. J. P., Ramírez-Gamboa, D., Meléndez-Sánchez, E. R., López-Arellanes, M. E., Castañeda-Antonio, M. D., Coronado-Apodaca, K. G., Gomes Araújo, R., Sosa-Hernández, J. E., Melchor-Martínez, E. M., Iqbal, H. M. N., Parra-Saldivar, R., i Martínez-Ruiz, M. (2023). Microalgae-Based Biotechnology as Alternative Biofertilizers for Soil Enhancement and Carbon Footprint Reduction: Advantages and Implications. W *Marine Drugs* (T. 21, Numer 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/md21020093>
- Overshoot Footprint Network <https://www.overshoot.footprintnetwork.org>, (data dostępu: 16.06.2025r.)

- Oze, C., Beisel, J., Dabsys, E., Dall, J., North, G., Scott, A., Lopez, A. M., Holmes, R., i Fendorf, S. (2021). Perchlorate and Agriculture on Mars. *Soil Systems*, 5(3), 37. <https://doi.org/10.3390/soilsystems5030037>
- Palmroth, M., Tapio, J., Soucek, A., Perrels, A., Jah, M., Lönnqvist, M., Nikulainen, M., Piaulokaite, V., Seppälä, T., i Virtanen, J. (2021). Toward Sustainable Use of Space: Economic, Technological, and Legal Perspectives. *Space Policy*, 57, 101428. <https://doi.org/10.1016/j.spacepol.2021.101428>
- Parakh, S. K., Tian, Z., Wong, J. Z. E., i Tong, Y. W. (2023). From Microalgae to Bioenergy: Recent Advances in Biochemical Conversion Processes. *Fermentation*, 9(6), 529. <https://doi.org/10.3390/fermentation9060529>
- Park, Y. J., Park, J.-E., Truong, T. Q., Koo, S. Y., Choi, J.-H., i Kim, S. M. (2022). Effect of *Chlorella vulgaris* on the Growth and Phytochemical Contents of “Red Russian” Kale (*Brassica napus* var. *Pabularia*). *Agronomy*, 12(9), 2138. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092138>
- Parmar, P., Kumar, R., Neha, Y., i Srivatsan, V. (2023). Microalgae as next generation plant growth additives: Functions, applications, challenges and circular bioeconomy based solutions. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1073546>
- Paul, A. L., Elardo, S. M., i Ferl, R. (2022). Plants grown in Apollo lunar regolith present stress-associated transcriptomes that inform prospects for lunar exploration. *Communications Biology*, 5(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03334-8>
- Paul Chowdhury, S., Babin, D., Sandmann, M., Jacquioid, S., Sommermann, L., Sørensen, S. J., Fliessbach, A., Mäder, P., Geistlinger, J., Smalla, K., Rothballer, M., i Grosch, R. (2019). Effect of long-term organic and mineral fertilization strategies on rhizosphere microbiota assemblage and performance of lettuce. *Environmental Microbiology*, 21(7), 2426–2439. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14631>
- Peters, G. H., Abbey, W., Bearman, G. H., Mungas, G. S., Smith, J. A., Anderson, R. C., Douglas, S., i Beegle, L. W. (2008). Mojave Mars simulant-Characterization of a new geologic Mars analog. *Icarus*, 197(2), 470–479. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2008.05.004>
- Plaza, B. M., Gómez-Serrano, C., Acién-Fernández, F. G., i Jimenez-Becker, S. (2018). Effect of microalgae hydrolysate foliar application (*Arthrospira platensis* and *Scenedesmus* sp.) on *Petunia x hybrida* growth. *Journal of Applied Phycology*, 30(4), 2359–2365. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1427-0>
- Pluchon, P.-F., Aubry, B., Oliver, P.-H., i Navarro, G. (b.d.). Plant Cultivation System in Space Environment: Towards Food Autonomy for Lunar and Martian Missions by 2050. <https://www.researchgate.net/publication/383220454>
- Poulton, S. W., i Canfield, D. E. (2005). Development of a sequential extraction procedure for iron: implications for iron partitioning in continentally derived particulates. *Chemical Geology*, 214(3–4), 209–221. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2004.09.003>

- Povero, G., Mejia, J. F., Di Tommaso, D., Piaggese, A., i Warrior, P. (2016). A Systematic Approach to Discover and Characterize Natural Plant Biostimulants. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00435>
- Prasad, R., Gupta, S. K., Shabnam, N., Oliveira, C. Y. B., Nema, A. K., Ansari, F. A., i Bux, F. (2021). Role of Microalgae in Global CO₂ Sequestration: Physiological Mechanism, Recent Development, Challenges, and Future Prospective. *Sustainability*, 13(23), 13061. <https://doi.org/10.3390/su132313061>
- Prisa, D., i Spagnuolo, D. (2023). Plant Production with Microalgal Biostimulants. *Horticulturae*, 9(7), 829. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9070829>
- Purwani, J., Pratiwi, E., Sipahutar, I. A., i Husnain. (2021). The effect of different species of cyanobacteria on the rice yield and nitrogen use efficiency under different levels of nitrogen fertilizer on Alluvial West Java. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 648(1), 012196. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/648/1/012196>
- Rabbow, E., Rettberg, P., Barczyk, S., Bohmeier, M., Parpart, A., Panitz, C., Horneck, G., Von Heise-Rotenburg, R., Hoppenbrouwers, T., Willnecker, R., Baglioni, P., Demets, R., Dettmann, J., i Reitz, G. (2012). EXPOSE-E: An ESA astrobiology mission 1.5 years in space. *Astrobiology*, 12(5), 374–386. <https://doi.org/10.1089/ast.2011.0760>
- Rachidi, F., Benhima, R., Kasmi, Y., Sbabou, L., i Arroussi, H. El. (2021). Evaluation of microalgae polysaccharides as biostimulants of tomato plant defense using metabolomics and biochemical approaches. *Scientific Reports*, 11(1), 930. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78820-2>
- Rafa, N., Ahmed, S. F., Badruddin, I. A., Mofijur, M., i Kamangar, S. (2021). Strategies to Produce Cost-Effective Third-Generation Biofuel From Microalgae. *W Frontiers in Energy Research (T. 9)*. Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2021.749968>
- Ray, K., Mukherjee, C., i Ghosh, A. N. (2013). A way to curb phosphorus toxicity in the environment: Use of polyphosphate reservoir of cyanobacteria and microalga as a safe alternative phosphorus biofertilizer for Indian agriculture. *Environmental Science and Technology*, 47(20), 11378–11379. <https://doi.org/10.1021/es403057c>
- Revellame, E. D., Aguda, R., Chistoserdov, A., Fortela, D. L., Hernandez, R. A., i Zappi, M. E. (2021). Microalgae cultivation for space exploration: Assessing the potential for a new generation of waste to human life-support system for long duration space travel and planetary human habitation. *Algal Research*, 55, 102258. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102258>
- Revellame, E. D., Aguda, R., Gatdula, K. M., Holmes, W., Fortela, D. L., Sharp, W., Gang, D., Chistoserdov, A., Hernandez, R., i Zappi, M. E. (2024). Microalgae in bioregenerative life support systems for space applications. *Algal Research*, 77, 103332. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103332>
- Rezzonico, F., Smits, T. H., Montesinos, E., Frey, J. E., i Duffy, B. (2009). Genotypic comparison of *Pantoea agglomerans* plant and clinical strains. *BMC Microbiology*, 9(1), 204. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-204>

- Richardson, T. M. J., Flynn, M., Samson, J., Palmer, G., Berliner, A., Trieu, S., Yendler, A., Beeler, D., i Garza, S. (2013). Design, construction, and testing of the forward Osmosis Secondary Treatment system to treat bioreactor effluent. 43rd International Conference on Environmental Systems. <https://doi.org/10.2514/6.2013-3336>
- Ritonga, F. N., Zhou, D., Zhang, Y., Song, R., Li, C., Li, J., i Gao, J. (2023). The Roles of Gibberellins in Regulating Leaf Development. *Plants*, 12(6), 1243. <https://doi.org/10.3390/plants12061243>
- Rojas-Villalta, D., Rojas-Rodríguez, D., Villanueva-Ilama, M., Guillén-Watson, R., Murillo-Vega, F., Gómez-Espinoza, O., i Núñez-Montero, K. (2024). Exploring Extremotolerant and Extremophilic Microalgae: New Frontiers in Sustainable Biotechnological Applications. *Biology*, 13(9), 712. <https://doi.org/10.3390/biology13090712>
- Romero-Frasca, E., Galea-Outón, S., Coronado-Apodaca, K. G., Milferstedt, K., Jimenez, J., Hamelin, J., i Buitrón, G. (2024). Bioaccessibility Characterization of Organic Matter, Nitrogen, and Phosphorus from Microalgae-Bacteria Aggregates. *Waste and Biomass Valorization*, 15(9), 5137–5150. <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02495-3>
- Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., i Tava, A. (2019). Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions. *Agronomy*, 9(4), 192. <https://doi.org/10.3390/agronomy9040192>
- Rout, G. R., i Sahoo, S. (2015). ROLE OF IRON IN PLANT GROWTH AND METABOLISM. *Reviews in Agricultural Science*, 3(0), 1–24. <https://doi.org/10.7831/ras.3.1>
- Ruggerio, C. A. (2021). Sustainability and sustainable development: A review of principles and definitions. *Science of The Total Environment*, 786, 147481. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147481>
- Ryan, P. R., i Delhaize, E. (2010). The convergent evolution of aluminium resistance in plants exploits a convenient currency. *Functional Plant Biology*, 37(4), 275. <https://doi.org/10.1071/FP09261>
- Rybak, A. S., Dziuba, M., Pelechata, A., Rybak, M., Akter, S., Czerepska, A., Dulić, T., Gąbka, M., Hindáková, A., Jurczak, T., Kendir, A., Mankiewicz-Boczek, J., Meriluoto, J., i Wejnerowski, Ł. (2024). Characterization of cyanobacterial mats from an artificial hot spring in Uniejów (Poland) and the potential use of their biomass. *Algal Research*, 82, 103646. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103646>
- Rzymiski, P., Poniedziałek, B., Hippmann, N., i Kaczmarek, Ł. (2022). Screening the Survival of Cyanobacteria Under Perchlorate Stress. Potential Implications for Mars In Situ Resource Utilization. *Astrobiology*, 22(6), 672–684. <https://doi.org/10.1089/ast.2021.0100>
- S. K. Runcorn, D. W. Collinson, W. O'Reilly, A. Stephenson, M. H. Battey, A. J. Manson, i P. W. Readman. (1970). Magnetic properties of Apollo 11 lunar samples. *Geochimica et Cosmochimica Acta Supplement*, Volume 1. Proceedings of the Apollo 11 Lunar Science Conference held 5-8 January, 1970 in Houston, TX. Volume 3: Physical Properties. Edited by A. A. Levinson. New York: Pergamon Press, 3, 2369–2387.

- Sachdeva, N., Giambarresi, G., Poughon, L., Cabrera, J. C., Leroy, B., Lasseur, C., Dussap, C.-G., i Wattiez, R. (2018). Assessment of transient effects of alternative nitrogen sources in continuous cultures of *Arthrospira* sp. using proteomic, modeling and biochemical tools. *Bioresource Technology*, 267, 492–501. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.062>
- Sacramento, A. T., García-Jiménez, P., Alcázar, R., Tiburcio, A. F., i Robaina, R. R. (2004). INFLUENCE OF POLYAMINES ON THE SPORULATION OF GRATELOUPIA (HALYMENIACEAE, RHODOPHYTA). *Journal of Phycology*, 40(5), 887–894. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2004.03183.x>
- Sadigov, R. (2022). Rapid Growth of the World Population and Its Socioeconomic Results. *The Scientific World Journal*, 2022, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2022/8110229>
- Sakatani, N., Ogawa, K., Arakawa, M., i Tanaka, S. (2018). Thermal conductivity of lunar regolith simulant JSC-1A under vacuum. *Icarus*, 309, 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2018.02.027>
- Sánchez-Monedero, M. A., Roig, A., Paredes, C., i Bernal, M. P. (2001). Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of the composting mixtures. *Bioresource Technology*, 78(3), 301–308. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00031-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00031-1)
- Schaller, J., Puppe, D., Kaczorek, D., Ellerbrock, R., i Sommer, M. (2021). Silicon Cycling in Soils Revisited. *Plants*, 10(2), 295. <https://doi.org/10.3390/plants10020295>
- Schreiner, S. S., Dominguez, J. A., Sibille, L., i Hoffman, J. A. (2016). Thermophysical property models for lunar regolith. *Advances in Space Research*, 57(5), 1209–1222. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2015.12.035>
- Schroeder, G., Messyaszy, B., Łęska, B., Fabrowska, J., Pikosz, M., i Rybak, A. (2013). Biomass of freshwater algae as raw material for the industry and agriculture. *Przem. Chem.*, 92/7, 1380.
- Scott, S. A., Davey, M. P., Dennis, J. S., Horst, I., Howe, C. J., Lea-Smith, D. J., i Smith, A. G. (2010). Biodiesel from algae: challenges and prospects. *Current Opinion in Biotechnology*, 21(3), 277–286. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.03.005>
- Sekar, M., Mathimani, T., Alagumalai, A., Chi, N. T. L., Duc, P. A., Bhatia, S. K., Brindhadevi, K., i Pugazhendhi, A. (2021). A review on the pyrolysis of algal biomass for biochar and bio-oil – Bottlenecks and scope. *Fuel*, 283, 119190. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119190>
- Seweryn, K., Paśko, P., i Visentin, G. (2019). The Prototype of Regolith Sampling Tool Dedicated to Low Gravity Planetary Bodies. *Mechanisms and Machine Science*, 73, 2711–2720. https://doi.org/10.1007/978-3-030-20131-9_268
- Seweryn, K., Skocki, K., Banaszkiwicz, M., Grygorczuk, J., Kolano, M., Kuciński, T., Mazurek, J., Morawski, M., Bialek, A., Rickman, H., i Wawrzaszek, R. (2014). Determining the geotechnical properties of planetary regolith using Low Velocity Penetrometers. *Planetary and Space Science*, 99, 70–83. <https://doi.org/10.1016/j.pss.2014.05.004>

- Shaima, A. F., Mohd Yasin, N. H., Ibrahim, N., Takriff, M. S., Gunasekaran, D., i Ismaeel, M. Y. Y. (2022). Unveiling antimicrobial activity of microalgae *Chlorella sorokiniana* (UKM2), *Chlorella* sp. (UKM8) and *Scenedesmus* sp. (UKM9). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 1043–1052. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.069>
- Sharangi, A. (2016). Chapter 4 Secondary Metabolites in Spices and Medicinal Plants: An Overview. *W Plant Secondary Metabolites*, 3 Volume Set (s. 143–168). Apple Academic Press. <https://doi.org/10.1201/9781315207506-5>
- Shearer, C. K., McCubbin, F. M., Eckley, S., Simon, S. B., Meshik, A., McDonald, F., Schmitt, H. H., Zeigler, R. A., Gross, J., Mitchell, J., Krysher, C., Morris, R. V., Parai, R., Jolliff, B. L., Gillis-Davis, J. J., Joy, K. H., Bell, S. K., Lucey, P. G., Sun, L., ... Welten, K. (2024). Apollo Next Generation Sample Analysis (ANGSA): an Apollo Participating Scientist Program to Prepare the Lunar Sample Community for Artemis. *Space Science Reviews*, 220(6). <https://doi.org/10.1007/s11214-024-01094-x>
- Shedeed, Z. A., Gheda, S., Elsanadily, S., Alharbi, K., i Osman, M. E. H. (2022). *Spirulina platensis* Biofertilization for Enhancing Growth, Photosynthetic Capacity and Yield of *Lupinus luteus*. *Agriculture*, 12(6), 781. <https://doi.org/10.3390/agriculture12060781>
- Shrestha, B., Hernandez, R., Fortela, D. L. B., Sharp, W., Chistoserdov, A., Gang, D., Revellame, E., Holmes, W. E., i Zappi, M. E. (2023). Formulation of a Simulated Wastewater Influent Composition for Use in the Research of Technologies for Managing Wastewaters Generated during Manned Long-Term Space Exploration and Other Similar Situations—Literature-Based Composition Development. *BioTech*, 12(1), 8. <https://doi.org/10.3390/biotech12010008>
- Sido, M. Y., Tian, Y., Wang, X., i Wang, X. (2022). Application of microalgae *Chlamydomonas applanata* M9V and *Chlorella vulgaris* S3 for wheat growth promotion and as urea alternatives. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1035791>
- Silambarasan, S., Logeswari, P., Sivaramakrishnan, R., Incharoensakdi, A., Cornejo, P., Kamaraj, B., i Chi, N. T. L. (2021). Removal of nutrients from domestic wastewater by microalgae coupled to lipid augmentation for biodiesel production and influence of deoiled algal biomass as biofertilizer for *Solanum lycopersicum* cultivation. *Chemosphere*, 268, 129323. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129323>
- Singh, B., Chauhan, V. S., Singh, S., i Bisen, P. S. (2002). Physiological Alterations and Regulation of Heterocyst and Nitrogenase Formation in Het Fix Mutant Strain of *Anabaena variabilis*. <https://doi.org/10.1007/s00284-002-3756-z>
- Slinksienė, R., Sendzikiene, E., Mikolaitiene, A., Makareviciene, V., Paleckiene, R., i Ragauskaitė, D. (2022). Use of microalgae biomass for production of granular nitrogen biofertilizers. *W Green Chemistry Letters and Reviews* (T. 15, Numer 2, s. 415–425). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/17518253.2022.2071593>
- Smith, P. H., Tamppari, L. K., Arvidson, R. E., Bass, D., Blaney, D., Boynton, W. V., Carswell, A., Catling, D. C., Clark, B. C., Duck, T., DeJong, E., Fisher, D., Goetz, W., Gunnlaugsson, H. P., Hecht, M. H., Hipkin, V., Hoffman, J., Hviid, S. F., Keller, H. U.,

- Zent, A. P. (2009). H₂O at the Phoenix Landing Site. *Science*, 325(5936), 58–61.
<https://doi.org/10.1126/science.1172339>
- Sobiczewski, P., i Iakimova, E. T. (2022). Plant and Human Pathogenic Bacteria Exchanging their Primary Host Environments. *Journal of Horticultural Research*, 30(1), 11–30.
<https://doi.org/10.2478/johr-2022-0009>
- Soffen, G. A. (1976). Scientific Results of the Viking Missions. *Science*, 194(4271), 1274–1276. <https://doi.org/10.1126/science.194.4271.1274>
- Solovchenko, A., Zaitsev, P., i Zotov, V. (2021). Phosphorus biofertilizer from microalgae. W *Biofertilizers: Volume 1: Advances in Bio-inoculants* (s. 57–68). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00022-1>
- Song, C., Han, X., Yin, Q., Chen, D., Li, H., i Li, S. (2021). Performance intensification of CO₂ absorption and microalgae conversion (CAMC) hybrid system via low temperature plasma (LTP) treatment. *Science of The Total Environment*, 801, 149791.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149791>
- Song, M., Pham, H. D., Seon, J., i Woo, H. C. (2015). Overview of anaerobic digestion process for biofuels production from marine macroalgae: A developmental perspective on brown algae. W *Korean Journal of Chemical Engineering* (T. 32, Numer 4, s. 567–575). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11814-015-0039-5>
- Songolzadeh, M., Soleimani, M., Takht Ravanchi, M., i Songolzadeh, R. (2014). Carbon Dioxide Separation from Flue Gases: A Technological Review Emphasizing Reduction in Greenhouse Gas Emissions. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–34.
<https://doi.org/10.1155/2014/828131>
- Space Resource Technologies <https://spaceresourcetechn.com>, (data dostępu: 16.06.2025r.)
- Stirk, W. A., Bálint, P., Tarkowská, D., Novák, O., Strnad, M., Ördög, V., i van Staden, J. (2013). Hormone profiles in microalgae: Gibberellins and brassinosteroids. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 348–353. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.037>
- Stirk, W. A., Ördög, V., Novák, O., Rolčík, J., Strnad, M., Bálint, P., i van Staden, J. (2013). Auxin and cytokinin relationships in 24 microalgal strains. *Journal of Phycology*, 49(3), 459–467. <https://doi.org/10.1111/jpy.12061>
- Stolarski, M. J., Krzyżaniak, M., Warmiński, K., Olba-Zięty, E., Penni, D., i Bordiean, A. (2019). Energy efficiency indices for lignocellulosic biomass production: Short rotation coppices versus grasses and other herbaceous crops. *Industrial Crops and Products*, 135, 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.022>
- Stolarski, M. J., Peni, D., i Dębowski, M. (2022). Biogas potential of cup plant and willow-leaf sunflower biomass. *Energy*, 255, 124559.
<https://doi.org/10.1016/j.energy.2022.124559>
- Stolarski, M. J., Warmiński, K., Krzyżaniak, M., Olba-Zięty, E., i Akincza, M. (2020). Bioenergy technologies and biomass potential vary in Northern European countries. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 133, 110238.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110238>

- Suescun-Florez, E., Roslyakov, S., Iskander, M., i Baamer, M. (2015). Geotechnical Properties of BP-1 Lunar Regolith Simulant. *Journal of Aerospace Engineering*, 28(5). [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)AS.1943-5525.0000462](https://doi.org/10.1061/(ASCE)AS.1943-5525.0000462)
- Sullivan, R., Anderson, R., Biesiadecki, J., Bond, T., i Stewart, H. (2011). Cohesions, friction angles, and other physical properties of Martian regolith from Mars Exploration Rover wheel trenches and wheel scuffs. *Journal of Geophysical Research*, 116(E2), E02006. <https://doi.org/10.1029/2010JE003625>
- Sun, T., Rao, S., Zhou, X., i Li, L. (2022). Plant carotenoids: recent advances and future perspectives. *W Molecular Horticulture* (T. 2, Numer 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s43897-022-00023-2>
- Sun, X., Zhang, R., Li, X., Zou, M., Wang, C., i Chen, L. (2022). JLU-H: A novel lunar highland regolith simulant for use in large-scale engineering experiments. *Planetary and Space Science*, 221, 105562. <https://doi.org/10.1016/j.pss.2022.105562>
- Sun, Y., Jiang, T., Zhuang, Y., Zhang, H., Britt, D. T., i Zhu, M.-H. (2023). A laboratory study of the photometric properties of Mars Global Soil Simulant MGS-1 and its variants. *Planetary and Space Science*, 227, 105639. <https://doi.org/10.1016/j.pss.2023.105639>
- Sung, K. (1999). CO₂ fixation by *Chlorella* sp. KR-1 and its cultural characteristics. *Bioresource Technology*, 68(3), 269–273. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00152-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00152-7)
- Talboys, P. J., Heppell, J., Roose, T., Healey, J. R., Jones, D. L., i Withers, P. J. A. (2016). Struvite: a slow-release fertiliser for sustainable phosphorus management? *Plant and Soil*, 401(1–2), 109–123. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2747-3>
- Tamburic, B., Zemichael, F. W., Maitland, G. C., i Hellgardt, K. (2011). Parameters affecting the growth and hydrogen production of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(13), 7872–7876. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.11.074>
- Tan, J. Sen, Lee, S. Y., Chew, K. W., Lam, M. K., Lim, J. W., Ho, S.-H., i Show, P. L. (2020). A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids. *Bioengineered*, 11(1), 116–129. <https://doi.org/10.1080/21655979.2020.1711626>
- Tang, J., Qu, X., Chen, S., Pu, Y., He, X., Zhou, Z., Wang, H., Jin, N., Huang, J., Shah, F., Hu, Y., i Abomohra, A. (2023). Microalgae Cultivation Using Municipal Wastewater and Anaerobic Membrane Effluent: Lipid Production and Nutrient Removal. *Water*, 15(13), 2388. <https://doi.org/10.3390/w15132388>
- Tang, Y., Dong, W., Ai, W., Zhang, L., Li, J., Yu, Q., Guo, S., i Li, Y. (2021). Design and establishment of a large-scale controlled ecological life-support system integrated experimental platform. *Life Sciences in Space Research*, 31, 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2021.08.001>
- Tarakhovskaya, E. R., Maslov, Y. I., i Shishova, M. F. (2007). Phytohormones in algae. *W Russian Journal of Plant Physiology* (T. 54, Numer 2, s. 163–170). <https://doi.org/10.1134/S1021443707020021>

- Taylor, L., Schmitt, H., Carrier, W., i Nakagawa, M. (2005, styczeń 30). Lunar Dust Problem: From Liability to Asset. 1st Space Exploration Conference: Continuing the Voyage of Discovery. <https://doi.org/10.2514/6.2005-2510>
- Terwayet Bayouli, I., Terwayet Bayouli, H., Dell'Oca, A., Meers, E., i Sun, J. (2021). Ecological indicators and bioindicator plant species for biomonitoring industrial pollution: Eco-based environmental assessment. *Ecological Indicators*, 125, 107508. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107508>
- Tesfa, T., Asres, D., i Woreta, H. (2018). Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Yield and Yield Components as Affected by Mulching at Teda, Central Gondar, Ethiopia. *International Journal of Scientific Research and Management*, 6(09). <https://doi.org/10.18535/ijstrm/v6i9.ah01>
- Thi Kieu Oanh, N., Thi Thuy, D., Thi Oanh, D., Thi Nguyet, V., i Van Nam, N. (2022). The domestic wastewater treatment capacity of *Spirulina platensis* SP4 and the application of the treated wastewater in stimulating rice germination. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 20(4), 773–784. <https://doi.org/10.15625/1811-4989/16871>
- Tian, S. L., Khan, A., Zheng, W. N., Song, L., Liu, J. H., Wang, X. Q., i Li, L. (2022). Effects of *Chlorella* extracts on growth of *Capsicum annuum* L. seedlings. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19846-6>
- Torres, A., Padrino, S., Brito, A., i Díaz, L. (2023). Biogas production from anaerobic digestion of solid microalgae residues generated on different processes of microalgae-to-biofuel production. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(6), 4659–4672. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01898-9>
- Tran, D. T., Nguyen, H. Y., Do, T. C. Van, Show, P. L., Le, T. G., i Nguyen, V. T. (2020). Factors affecting pollutants removal and biomass production capability of *Chlorella variabilis* TH03 in domestic wastewater. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 545–558. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.05.003>
- Tran, D. T., Van Do, T. C., Nguyen, Q. T., i Le, T. G. (2021). Simultaneous removal of pollutants and high value biomaterials production by *Chlorella variabilis* TH03 from domestic wastewater. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 23(1), 3–17. <https://doi.org/10.1007/s10098-020-01810-5>
- Trivedi, P., Delgado-Baquerizo, M., Anderson, I. C., i Singh, B. K. (2016). Response of Soil Properties and Microbial Communities to Agriculture: Implications for Primary Productivity and Soil Health Indicators. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00990>
- Trojanowska, A. (2005). Sałata *Lactuca* sp. Jako roślina lecznicza w badaniach polskich XIX farmaceutów i lekarzy. *Kwartalnik Historii Nauki i Techniki*, 50(3–4), 123–134.
- Tuinplus. <https://www.tuinplus.nl>, (data dostępu: 16.06.2025r.)
- Vaz, E., i Penfound, E. (2020). Mars Terraforming: A Geographic Information Systems Framework. *Life Sciences in Space Research*, 24, 50–63. <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2019.12.001>

- Velmozhina, K., Shinkevich, P., Zhazhkov, V., Politaeva, N., Korablev, V., Vladimirov, I., i Morales, T. C. (2023). Production of Biohydrogen from Microalgae Biomass after Wastewater Treatment and Air Purification from CO₂. *Processes*, 11(10), 2978. <https://doi.org/10.3390/pr11102978>
- Verostko, C. E., Carrier, C., i Finger, B. W. (2004). Ersatz Wastewater Formulations for Testing Water Recovery Systems. *W JOURNAL OF AEROSPACE* (T. 113). <https://www.jstor.org/stable/44737966>
- Vorisek, F. E., Ji, Y., Hillis, M. H., Parker, J., Thompson, J., Liu, K., i Crocker, M. (2023). Towards an Integrated Process for CO₂ Capture and Utilization: Cultivation of *Scenedesmus acutus* Using Gaseous CO₂ and NH₃. *BioEnergy Research*, 16(4), 2439–2449. <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10592-9>
- Wamelink, W., Frissel, J. Y., Krijnen, W. H. J., i Verwoert, M. R. (2019). Crop growth and viability of seeds on Mars and Moon soil simulants. *Open Agriculture*, 4(1), 509–516. <https://doi.org/10.1515/opag-2019-0051>
- Wamelink, W., Frissel, J. Y., Krijnen, W. H. J., i Verwoert, M. R. (2021). Crop Growth and Viability of Seeds on Mars and Moon Soil Simulants. *W Terraforming Mars* (s. 313–329). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119761990.ch13>
- Wamelink, W., Schug, L., Frissel, J. Y., i Lubbers, I. (2022). Growth of Rucola on Mars soil simulant under the influence of pig slurry and earthworms. *Open Agriculture*, 7(1), 238–248. <https://doi.org/10.1515/opag-2022-0079>
- Wamelink, W., Frissel, J. Y., Krijnen, W. H. J., i Verwoert, M. R. (2019). Crop growth and viability of seeds on Mars and Moon soil simulants. *Open Agriculture*, 4(1), 509–516. <https://doi.org/10.1515/opag-2019-0051>
- Wamelink, W., Frissel, J. Y., Krijnen, W. H. J., Verwoert, M. R., i Goedhart, P. W. (2014). Can plants grow on mars and the moon: A growth experiment on mars and moon soil simulants. *PLoS ONE*, 9(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103138>
- Wamelink, W., i Pouwels, C. (2024). Effect of struvite on the growth of green beans on Mars and Moon regolith simulants. *Open Agriculture*, 9(1). <https://doi.org/10.1515/opag-2022-0261>
- Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., i Guo, S. (2013). The Critical Role of Potassium in Plant Stress Response. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 7370–7390. <https://doi.org/10.3390/ijms14047370>
- Wang, Z., Wu, Y., Blewett, D. T., Cloutis, E. A., Zheng, Y., i Chen, J. (2017). Submicroscopic metallic iron in lunar soils estimated from the in situ spectra of the Chang'E-3 mission. *Geophysical Research Letters*, 44(8), 3485–3492. <https://doi.org/10.1002/2017GL072652>
- Wądrzyk, M., Janus, R., Dziok, T., i Jakóbiec, J. (2017). Produkcja biokomponentów paliwowych drugiej i trzeciej generacji poprzez procesy termochemiczne – bioolej z mikroalg. *Nafta-Gaz*, 73(9), 640–650. <https://doi.org/10.18668/NG.2017.09.03>

- Wei, Z., Van Le, Q., Peng, W., Yang, Y., Yang, H., Gu, H., Lam, S. S., i Sonne, C. (2021). A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil. *Journal of Hazardous Materials*, 403, 123658. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123658>
- Weiblen, P. W., Murawa, M. J., i Reid, K. J. (1990). Preparation of simulants for lunar surface materials. *Proceedings of the American Society of Civil Engineers in Space II*, 98–106.
- Xiao, X., Li, W., Jin, M., Zhang, L., Qin, L., i Geng, W. (2023). Responses and tolerance mechanisms of microalgae to heavy metal stress: A review. *Marine Environmental Research*, 183, 105805. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2022.105805>
- Xie, P., Ho, S.-H., Peng, J., Xu, X.-J., Chen, C., Zhang, Z.-F., Lee, D.-J., i Ren, N.-Q. (2019). Dual purpose microalgae-based biorefinery for treating pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) residues and biodiesel production. *Science of The Total Environment*, 688, 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.062>
- Xu, Q., Zhu, T., Zhao, R., Zhao, Y., Duan, Y., Liu, X., Luan, G., Hu, R., Tang, S., Ma, X., Liu, Y., Li, S., i Lu, X. (2023). *Arthrospira* promotes plant growth and soil properties under high salinity environments. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1293958>
- Xu, X., Du, X., Wang, F., Sha, J., Chen, Q., Tian, G., Zhu, Z., Ge, S., i Jiang, Y. (2020). Effects of Potassium Levels on Plant Growth, Accumulation and Distribution of Carbon, and Nitrate Metabolism in Apple Dwarf Rootstock Seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00904>
- Yandigeri, M. S., Yadav, A. K., Srinivasan, R., Kashyap, S., i Pabbi, S. (2011). Studies on mineral phosphate solubilization by cyanobacteria *Westiellopsis* and *Anabaena*. *Microbiology*, 80(4), 558–565. <https://doi.org/10.1134/S0026261711040229>
- Yang, C., Li, R., Zhang, B., Qiu, Q., Wang, B., Yang, H., Ding, Y., i Wang, C. (2019). Pyrolysis of microalgae: A critical review. *Fuel Processing Technology*, 186, 53–72. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2018.12.012>
- Yang, Q., Li, H., Wang, D., Zhang, X., Guo, X., Pu, S., Guo, R., i Chen, J. (2020). Utilization of chemical wastewater for CO₂ emission reduction: Purified terephthalic acid (PTA) wastewater-mediated culture of microalgae for CO₂ bio-capture. *Applied Energy*, 276, 115502. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2020.115502>
- Yin, K., Liu, J., Lin, J., Vasilescu, A.-R., Othmani, K., i Di Filippo, E. (2021). Interface Direct Shear Tests on JEZ-1 Mars Regolith Simulant. *Applied Sciences*, 11(15), 7052. <https://doi.org/10.3390/app11157052>
- Yousefi, Y., Hanachi, P., Samadi, M., i Khoshnamvand, M. (2023). Heavy metals (copper and iron) and nutrients (nitrate and phosphate) removal from aqueous medium by microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus*, and their biofilms. *Marine Environmental Research*, 188, 105989. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.105989>
- Yu, H., Kim, J., Rhee, C., Shin, J., Shin, S. G., i Lee, C. (2022). Effects of Different pH Control Strategies on Microalgae Cultivation and Nutrient Removal from Anaerobic Digestion Effluent. *Microorganisms*, 10(2), 357. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020357>

- Zarzycki, P. K., i Katzer, J. (2019). Multivariate Comparison of Lunar Soil Simulants. *Journal of Aerospace Engineering*, 32(5). [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)AS.1943-5525.0001075](https://doi.org/10.1061/(ASCE)AS.1943-5525.0001075)
- Zeng, X., Li, X., Martin, D. J. P., Tang, H., Yu, W., Yang, K., Wang, Z., i Wang, S. (2019). The Itokawa regolith simulant IRS-1 as an S-type asteroid surface analogue. *Icarus*, 333, 371–384. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2019.06.011>
- Zhan, C., Zhang, L., Ai, W., i Dong, W. (2022a). Green and Sustainable Treatment of Urine Wastewater with a Membrane-Aerated Biofilm Reactor for Space Applications. *Water (Switzerland)*, 14(22). <https://doi.org/10.3390/w14223704>
- Zhan, C., Zhang, L., Ai, W., i Dong, W. (2022b). Promoting Sustainability in Space: Biological Treatment of Urine Wastewater with a Membrane-Aerated Biofilm Reactor. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4149199>
- Zhang, M., Ning, R., Zheng, Q., i Gao, K. (2023). Microalgae-based biotechnology as a promising strategy for removing antibiotics from wastewater: opportunities, challenges and future directions. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1248765>
- Zhang, S., Zhang, L., Xu, G., Li, F., i Li, X. (2022). A review on biodiesel production from microalgae: Influencing parameters and recent advanced technologies. *W Frontiers in Microbiology (T. 13)*. *Frontiers Media S.A.* <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.970028>
- Zhang, Z., Xu, M., Fan, Y., Zhang, L., i Wang, H. (2024). Using microalgae to reduce the use of conventional fertilizers in hydroponics and soil-based cultivation. *Science of The Total Environment*, 912, 169424. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169424>
- Zhao, T., Liu, G., Liu, D., Yi, Y., Xie, B., i Liu, H. (2022). Water recycle system in an artificial closed ecosystem – Lunar Palace 1: Treatment performance and microbial evolution. *Science of The Total Environment*, 806, 151370. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151370>
- Zhao, Y., Luo, R., Zhang, H., Yuan, L., Fang, X., Tong, X., Qian, Y., Zhou, Z., Yang, Y., Zeng, X., Li, J.-F., Xu, X., Xie, Q., Gong, B.-Q., i Guo, J. (2025). The effects of simulated Martian regolith on *Arabidopsis* growth, circadian rhythms and rhizosphere microbiota. *Plant and Soil*, 510(1–2), 965–979. <https://doi.org/10.1007/s11104-024-06970-7>
- Zhao, Y., Xu, W., Zhao, Y., Pan, Y., Su, J., i Zhang, Z. (2023). Micro-topography dominated microhabitat significantly influences colonization and development of incubated-cyanobacteria biocrusts in a harsh sandy desert environment. *Applied Soil Ecology*, 188, 104874. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.104874>
- Zieliński, M., Dębowski, M., Kazimierowicz, J., i Świca, I. (2023). Microalgal Carbon Dioxide (CO₂) Capture and Utilization from the European Union Perspective. *Energies*, 16(3), 1446. <https://doi.org/10.3390/en16031446>
- Zieliński, M., Korzeniewska, E., Filipkowska, Z., Dębowski, M., Harnisz, M., i Kwiatkowski, R. (2017). Biohydrogen production at low load of organic matter by psychrophilic bacteria. *Energy*, 134, 1132–1139. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.05.119>

Żuchowska-Grzywacz, M. (2024). ROLNICTWO ZRÓWNOWAŻONE WOBEC
WSPÓŁCZESNYCH WYZWAŃ. Zeszyty Prawnicze, 24(1), 123–143.
<https://doi.org/10.21697/zp.2024.24.1.09>

10. Spis tabel

Tabela 1 Wpływ wykorzystania mikroglonów i sinic do poprawiania wydajności upraw.	32
Tabela 2 Charakterystyka chemiczna regolitu marsjańskiego pochodzącego z próbek z Viking 1 i Viking 2 (Clark i in., 1982), Pathfinder (Foley i in., 2003), Spirit (Brückner i in., 2008), Opportunity (Brückner i in., 2008) oraz Curiosity (Blake i in., 2013; Gellert i in., 2013)	38
Tabela 3 Skład chemiczny próbek regolitu księżycowego uzyskanych z misji programu Apollo (wt. %). Na podstawie danych pochodzących z (Zarzycki i Katzer, 2019).	40
Tabela 4 Zestawienie znanych symulantów księżycowych i marsjańskich.	43
Tabela 5 Charakterystyka ścieków wykorzystywanych do zasilania FBR podczas hodowli <i>C. vulgaris</i> i <i>A. platensis</i> w pierwszym etapie prac eksperymentalnych.	52
Tabela 6 Charakterystyka podłoża kontrolnego stosowanego w drugim etapie prac eksperymentalnych.	53
Tabela 7 . Charakterystyka chemiczna symulantów regolitów marsjańskich i księżycowych stosowanych w pracach eksperymentalnych; E2S1W3 (Mckay i in., 1994) E2S1W6, E2S2W4 (themartiangarden.com), E2S1W7, E2S2W5 (spaceresourcetechnology.com- przed 06.2021r), E2S1W2, E2S2W2/E2S1W4/E2S1W5, E2S2W3 (analizy własne)	54
Tabela 8 Wykaz i charakterystyka procesów jednostkowych z zintegrowanym systemie oczyszczania ścieków bytowych, produkcji biomasy mikroglonów/sinic oraz wykorzystania ich biomasy do użyźniania gleb pozaziemskich (regolitów).	127

11. Spis rysunków

Rysunek 1 Techniki zastosowania mikroglonów i sinic w procesach poprawienia wydajności uprawy roślin. Stworzone za pomocą BioRender.com	27
Rysunek 2 Koncepcja biologicznego systemu podtrzymania życia w warunkach pozaziemskich MELiSSA. Stworzone za pomocą BioRender.com	36
Rysunek 3 Schemat organizacyjny realizowanych prac eksperymentalnych, interpretacyjnych i koncepcyjnych.....	51
Rysunek 4 FBR podczas hodowli <i>C. vulgaris</i> w pierwszym etapie badań.	55
Rysunek 5 Schemat systemu FBR stosowanych w pierwszym etapie badań.	56
Rysunek 6 Stanowisko badawcze eksperymentów wazonowych z wykorzystaniem naturalnego (A) i sztucznego (B) oświetlenia uprawy.	57
Rysunek 7 Schemat procedury eksperymentalnej procesu produkcji i separacji biomasy <i>C. vulgaris</i> i <i>A. platensis</i>	58
Rysunek 8 Schemat procedury eksperymentalnej procesu produkcji i separacji biomasy <i>C. vulgaris</i> i <i>A. platensis</i>	59
Rysunek 9 Biomasa <i>C. vulgaris</i> przed procesem (A) i procesie dezintegracji (B) oraz biomasa <i>A. platensis</i> przed procesem (C) i po procesie dezintegracji (D) (powiększenie x40).	60
Rysunek 10 Zbiornik magazynowo-zwrotny biomasy poddawanej dezintegracji (A) i biomasa po liofilizacji gotowa do zastosowania w procesach nawożenia (B).	61
Rysunek 11 Proces magnetycznej separacji symulanta regolitu księżycowego JSC-1A (A) Wykorzystanie magnezu do oddzielenia frakcji ferromagnetycznej (B) zastosowane środki ochrony indywidualnej podczas obróbki symulanta- okulary ochronne i maska JSP FORCE8™ z filtrem Force® F-2000 P3 R.....	62
Rysunek 12 Biomasa przygotowana do nawożenia symulantów regolitów (A) oraz przykładowe mieszanki symulantów regolitu z biomasą mikroglonów (B) lub sinic (C).	63
Rysunek 13 Schemat organizacji eksperymentu przedstawiający wykorzystane rodzaje podłoży oraz zastosowane dawki bionawozu z biomasy <i>C. vulgaris</i> (A) i <i>A. platensis</i> (B). ...	65
Rysunek 14 Zmiany stężenia ChZT w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W1).....	72
Rysunek 15 Zmiany stężenia biomasy <i>C. vulgaris</i> w ciągu cyklu hodowlanego (E1S1W1)...	72
Rysunek 16 Zmiany stężenia azotu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W1).....	73
Rysunek 17 Zmiany stężenia fosforu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W1).....	73
Rysunek 18 Sprawność usuwania monitorowanych wskaźników zanieczyszczeń w zależności od rodzaju stosowanych ścieków bytowych podczas hodowli <i>C. vulgaris</i>	73
Rysunek 19 Zmiany stężenia ChZT w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W2).....	74
Rysunek 20 Zmiany stężenia biomasy <i>C. vulgaris</i> w ciągu cyklu hodowlanego (E1S1W2)...	74
Rysunek 21 Zmiany stężenia azotu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W2).....	75
Rysunek 22 Zmiany stężenia fosforu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S1W2).....	75
Rysunek 23 Zmiany stężenia biomasy <i>A. platensis</i> w ciągu cyklu hodowlanego (E1S2W1). 76	
Rysunek 24 Zmiany stężenia ChZT w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S2W1).....	76
Rysunek 25 Zmiany stężenia azotu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S2W1).....	77

Rysunek 26 Zmiany stężenia fosforu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S2W1).....	77
Rysunek 27 Sprawność usuwania monitorowanych wskaźników zanieczyszczeń w zależności od rodzaju stosowanych ścieków bytowych podczas hodowli <i>A. platensis</i>	78
Rysunek 28 Zmiany stężenia ChZT w medium podczas cyklu hodowlanego (E1W2S2).....	79
Rysunek 29 Zmiany stężenia biomasy <i>A. platensis</i> w ciągu cyklu hodowlanego (E1S2W2).	79
Rysunek 30 Zmiany stężenia azotu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S2W2).....	79
Rysunek 31 Zmiany stężenia fosforu ogólnego w medium podczas cyklu hodowlanego (E1S2W2).....	79
Rysunek 32 Zawartość azotu całkowitego w biomase <i>C. vulgaris</i> i <i>A. platensis</i> hodowanych w ściekach modelowych i rzeczywistych.....	81
Rysunek 33 Zawartość fosforu całkowitego w biomase <i>C. vulgaris</i> i <i>A. platensis</i> hodowanych w ściekach modelowych i rzeczywistych.....	81
Rysunek 34 Zawartość potasu całkowitego w biomase <i>C. vulgaris</i> i <i>A. platensis</i> hodowanych w ściekach modelowych i rzeczywistych.....	82
Rysunek 35 Zawartość węgla całkowitego w biomase <i>C. vulgaris</i> i <i>A. platensis</i> hodowanych w ściekach modelowych i rzeczywistych.....	83
Rysunek 36 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W1).....	88
Rysunek 37 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W1).	89
Rysunek 38 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W2).	91
Rysunek 39 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W2).	93
Rysunek 40 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W3).	95
Rysunek 41 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W3).	96
Rysunek 42 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W4).	99
Rysunek 43 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W4).	100
Rysunek 44 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W5).	102
Rysunek 45 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W5).	103
Rysunek 46 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W6).	105
Rysunek 47 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosowanej dawki nawozowej <i>C. vulgaris</i> (E2S1W6).	106
Rysunek 48 Zależność akumulacji suchej biomasy części podziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia.	107
Rysunek 49 Zależność akumulacji suchej biomasy części nadziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia.	107

Rysunek 50 Zależność akumulacji świeżej biomasy części nadziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia.	107
Rysunek 51 Zależność akumulacji świeżej biomasy części podziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia.	107
Rysunek 52 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosownej dawki nawozowej <i>A. platensis</i> (E2S2W1).	109
Rysunek 53 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosownej dawki nawozowej <i>A. platensis</i> (E2S2W1).	111
Rysunek 54 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosownej dawki nawozowej <i>A. platensis</i> (E2S2W2).	114
Rysunek 55 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosownej dawki nawozowej <i>A. platensis</i> (E2S2W2).	114
Rysunek 56 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosownej dawki nawozowej <i>A. platensis</i> (E2S2W3).	117
Rysunek 57 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosownej dawki nawozowej <i>A. platensis</i> (E2S2W3).	118
Rysunek 58 Uzyskany plon części nadziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosownej dawki nawozowej <i>A. platensis</i> (E2S2W4).	120
Rysunek 59 Uzyskany plon części podziemnej testowanej rośliny wskaźnikowej w zależności od stosownej dawki nawozowej <i>A. platensis</i> (E2S2W4).	121
Rysunek 60 Zależność akumulacji suchej biomasy części podziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia <i>A. platensis</i>	122
Rysunek 61 Zależność akumulacji świeżej biomasy części nadziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia <i>A. platensis</i>	122
Rysunek 62 Zależność akumulacji świeżej biomasy części podziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia <i>A. platensis</i>	122
Rysunek 63 Zależność akumulacji suchej biomasy części nadziemnej rośliny kontrolnej od rodzaju podłoża i poziomu nawożenia <i>A. platensis</i>	122
Rysunek 64 Schemat funkcjonalny procesów jednostkowych w zintegrowanym systemie oczyszczania ścieków, produkcji biomasy mikroglonów/sinic i ich wykorzystania w rolnictwie pozaziemskim.....	126