

**Bakterie endofityczne *Galium aparine* L. – analiza biosyntetycznych
klastrów genów i ich znaczenie w produkcji związków bioaktywnych**

mgr inż. Natalia Rutkowska

Promotor: dr hab. inż. Olga Marchut-Mikołajczyk, profesor uczelni

Promotor pomocniczy: dr hab. Inż. Bartosz Sekuła, profesor uczelni

Streszczenie

Postępująca degradacja środowiska wynikająca między innymi z zanieczyszczeń przemysłowych, emisji szkodliwych substancji oraz nadmiernej eksploatacji gleb, prowadzi do obniżania ich jakości. W efekcie gleby tracą swoją żyzność oraz zdolność do zatrzymywania wody i niezbędnych składników odżywczych, co negatywnie wpływa na wzrost i rozwój roślin, stanowiąc zagrożenie dla stabilności produkcji rolnej oraz bezpieczeństwa żywnościowego. W połączeniu ze wzrostem liczby ludności i rosnącym zapotrzebowaniem na żywność, czynniki te stwarzają konieczność poszukiwania bardziej efektywnych i zrównoważonych metod zwiększania wydajności produkcji rolnej oraz poprawy jakości wytwarzanej żywności. W tym kontekście coraz większe znaczenie zyskują rozwiązania oparte na wykorzystaniu mikroorganizmów, w tym endofitów, które mogą wspierać wzrost roślin i zwiększać ich odporność na stresy środowiskowe.

Celem niniejszej dysertacji były charakterystyka i identyfikacja taksonomiczna bakterii endofitycznych wyizolowanych z tkanek przytuli czepnej (*Galium aparine* L.), a także wytypowanie spośród nich szczepu o najwyższym potencjale do produkcji metaloforów na podstawie analiz genomowych. Niniejsza rozprawa doktorska stanowi pięć spójnych tematycznie publikacji naukowych, w tym czterech prac oryginalnych, zawierających wyniki przeprowadzonych badań.

Zakres prac obejmował sekwencjonowanie i złożenie genomów bakterii endofitycznych wyizolowanych z tkanek przytuli czepnej, analizę funkcjonalną genów w kontekście zdolności szczepów do produkcji związków bioaktywnych korzystnie wpływających na rośliny oraz walidację tej produkcji w warunkach laboratoryjnych. W dalszych etapach badań przeprowadzono też optymalizację produkcji metaloforów przez wyselekcjonowany szczep, oczyszczenie metaloforu oraz wstępną ocenę jego wpływu na wzrost roślin rosnących w glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi. Postawione cele pracy zostały zrealizowane, a w toku badań zweryfikowano przyjęte hipotezy badawcze.

Na podstawie uzyskanych wyników badań wszystkie dziesięć badanych szczepów bakterii endofitycznych zaklasyfikowano do rodziny Bacillaceae, przy czym dwa z nich, tj. *Priestia* sp. GS2 i *Bacillus* sp. GL1, z dużym prawdopodobieństwem stanowią dotychczas nieopisane gatunki. Analiza genomów wszystkich szczepów wykazała obecność genów oraz ich klastrów związanych z biosyntezą licznych związków bioaktywnych o właściwościach sprzyjających wzrostowi roślin, co znalazło potwierdzenie w wynikach badań laboratoryjnych. Jednocześnie analiza ta ujawniła wysoki potencjał badanych bakterii do produkcji metaloforów, w tym tych unikatowych i rzadziej występujących w środowisku. Wszystkie wyizolowane szczepy wykazywały zdolność do produkcji metaloforów w warunkach laboratoryjnych. Wśród nich wysokimi wartościami aktywności sideroforowej oraz profilem chelatowanych metali wyróżniły się *Priestia* sp. GS2 i *Peribacillus frigoritolerans* GR2. *Peribacillus frigoritolerans* GR2 wykazał zdolność do wiązania tak toksycznych metali ciężkich jak ołów, kadm i rtęć, z kolei *Priestia* sp. GS2 metali niezbędnych do prawidłowego rozwoju

roślin, w tym kobalt, cynk czy miedź. Przeprowadzono optymalizację produkcji metaloforu typu opinowego szczepu *Priestia* sp. GS2 oraz jego oczyszczanie. Wstępne badania dotyczące wpływu oczyszczonego metaloforu na wzrost i rozwój nasion *Beta vulgaris* L. w zanieczyszczonych metalami ciężkimi glebach ukazały potencjał do zastosowania metaloforu, jak i również samego szczepu, jako biostymulanta.

Podsumowując, uzyskane wyniki wskazują, że rośliny zielne stanowią obiecujące źródło bakterii endofitycznych o szerokim potencjale aplikacyjnym w rolnictwie oraz biotechnologii środowiskowej. Ich zdolność do produkcji związków bioaktywnych, w tym metaloforów wspierających wzrost roślin oraz zwiększających ich tolerancję na stres wywołany obecnością metali ciężkich, podkreśla możliwość wykorzystania tych szczepów jako naturalnych biostymulantów oraz elementów zrównoważonych strategii poprawy jakości gleb i wydajności upraw. Jednocześnie, szlaki biosyntezy metaloforów obecne u szczepów o najwyższym potencjale produkcyjnym wymagają dalszych, pogłębionych badań oraz dokładniejszej charakterystyki molekularnej i funkcjonalnej, ponieważ mechanizmy ich działania pozostają nadal niewystarczająco poznane. Wyniki niniejszej pracy stanowią podstawę do dalszych badań nad wykorzystaniem endofitów w opracowywaniu nowoczesnych i ekologicznych rozwiązań wspierających zrównoważoną produkcję rolną.

Słowa kluczowe: bakterie endofityczne, *Galium aparine* L., biosyntetyczne klastry genów, bioaktywne związki, metalofory