

Identyfikacja i charakterystyka fenotypowa bakterii endofitycznych komonicy zwyczajnej



UMCS
INSTYTUT NAUK BIOLOGICZNYCH

¹Paulina Adamczyk, ²Małgorzata Jędrzycka, ¹Monika Janczarek

¹Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

²Zakład Genetyki Patogenów i Odporności Roślin, Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

paulina.adamczyk@mail.umcs.pl

WSTĘP

Komonica zwyczajna (*Lotus corniculatus*) to roślina z rodziny bobowatych (*Fabaceae*), ceniona ze względu na swoje walory paszowe i znaczenie w rolnictwie ekologicznym. Roślina ta nawiązuje interakcje symbiotyczne z bakteriami brodawkowymi, co przyczynia się do poprawy żyzności gleby oraz zmniejszenia ilości stosowanych nawozów azotowych.

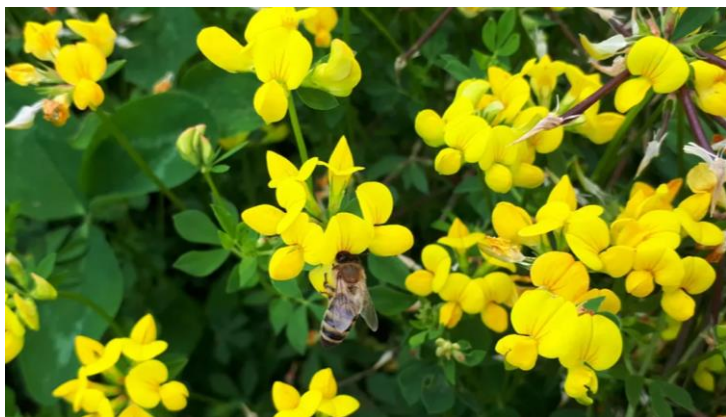


Fig. 1. Komonica zwyczajna (*Lotus corniculatus* L.).

W celu poszukiwania szczepów endofitycznych, wykazujących cechy promujące wzrost roślin, przeprowadzono izolację oraz charakterystykę fenotypową bakterii zasiedlających brodawki korzeniowe *L. corniculatus*.

METODYKA

Materiał do badań pozyskano w ramach projektu „Łazdoje Zero Tillage” (PROW 2023-2024 „Współpraca” nr: 00006. DDD.6509.00321.2022.14, realizowana przez ARiMR). Brodawki komonicy zwyczajnej odcięto od korzeni i poddano powierzchniowemu jałowieniu (Fig. 1-2). Bakterie bytujące we wnętrzu brodawek korzeniowych hodowano na bogatym podłożu stałym 79CA w temp. 28°C. Z czystych szczepów bakteryjnych wyizolowano całkowite DNA, które wykorzystano do identyfikacji przynależności gatunkowej wybranych izolatów metodą sekwencjonowania genu 16S rRNA. Następnie przeprowadzono analizę cech fenotypowych bakterii, tj. ocenę zdolności produkcji sideroforów chelatujących jony żelaza i laktonów N-acylo-L-homoseryny (AHL), będących cząsteczkami sygnałnymi w komunikacji międzybakteryjnej (*quorum sensing*). Zdolność produkcji sideroforów określono z wykorzystaniem podłoża CAS, a zdolność syntezy laktonów z wykorzystaniem szczepu markerowego *Chromobacterium violaceum* CV026. Dodatkowo przeprowadzono doświadczenie mające na celu ocenę zdolności szczepów do solubilizacji fosforanów na podłożu PN.



Fig. 2. Brodawki korzeniowe *L. corniculatus*.

WYNIKI

Analiza porównawcza sekwencji 16S rRNA wybranych izolatów z sekwencjami dostępnymi w bazach danych pozwoliła na zaklasyfikowanie szczepów wyizolowanych z brodawek korzeniowych *L. corniculatus* do rodzaju *Pseudomonas* z podobieństwem na poziomie 95,6-99,4%, przy czym część badanych izolatów wykazywała najwyższe podobieństwo do *P. helmanticensis*. Analiza cech fenotypowych wykazała, że wszystkie badane izolaty cechuje zdolność do produkcji sideroforów, o czym świadczy zmiana zabarwienia podłoża CAS (Fig. 3). W zależności od szczepu, strefy przejaśnień obserwowane po 2 dniach wynosiły od 11 do 16 mm. Doświadczenie mające na celu ocenę zdolności syntezy laktonów N-acylo-L-homoseryny (AHL) wykazało, że analizowane szczepy w niewielkim stopniu indukują produkcję barwnika wiołaceiny przez szczep wskaźnikowy. Natomiast większość badanych izolatów wykazywała zdolność do solubilizacji fosforanów, o czym świadczyły wyraźne strefy przejaśnienia wokół kolonii bakterii wynoszące od 15 do 29 mm.

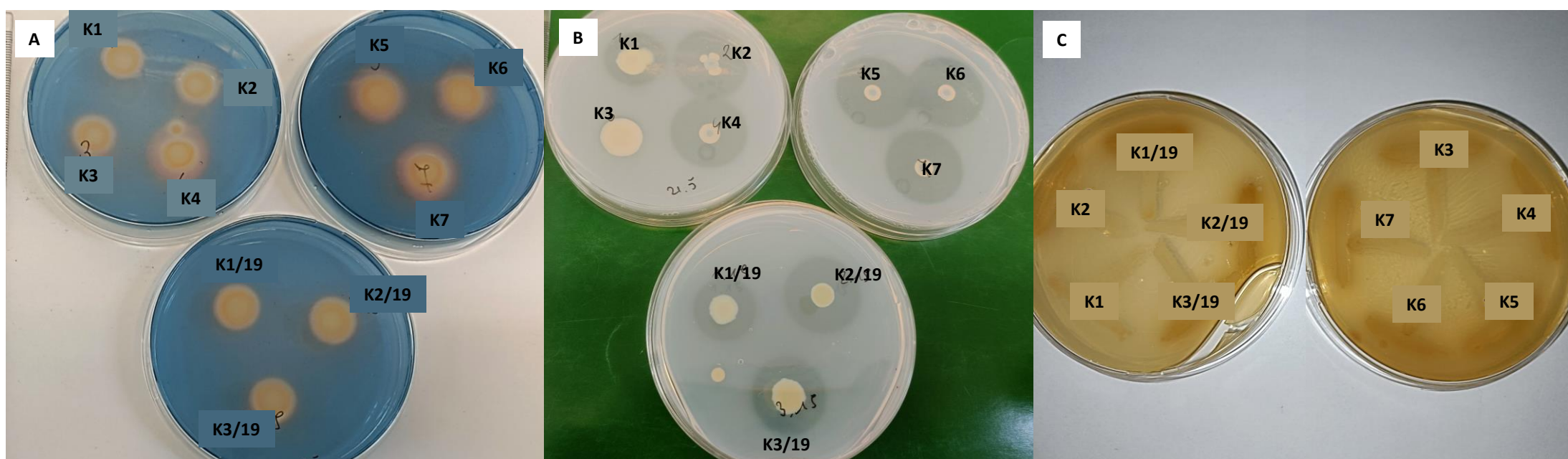


Fig. Charakterystyka fenotypowa endofitów *L. corniculatus* pod kątem A- produkcji sideroforów, B- syntezy AHL, C- solubilizacji fosforanów.

WNIOSKI

1. Szczepy bakteryjne zasiedlające brodawki korzeniowe *L. corniculatus* to m.in. bakterie z rodzaju *Pseudomonas*.
2. Badane izolaty wykazały zdolność do produkcji sideroforów i AHL oraz solubilizacji fosforanów, chociaż procesy te przeprowadzały z różną efektywnością; najbardziej efektywnymi szczepami w tych procesach były K2, K4, K6 i K7.
3. Analiza cech fenotypowych badanych szczepów wskazuje na ich duży potencjał zastosowań rolniczych, np. jako szczepionki lub składniki biopreparatów promujących wzrost roślin.