

Potencjał bakterii endofitycznych do produkcji deaminazy ACC

Małgorzata Woźniak^{1*}, Renata Tyśkiewicz², Anna Marzec-Grządziel¹, Anna Gałązka¹, Jolanta Jaroszuk-Ścisiel³

¹Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa–Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, e-mail: *m.wozniak@iung.pulawy.pl;

²Laboratorium Analityczne, Łukasiewicz–INS, al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 13a, 24-110 Puławy,

³Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

WSTĘP

❖ **Globalne zmiany klimatu to problem o najwyższym priorytecie**, zwiększający częstotliwość występowania ekstremalnych warunków pogodowych i mający wpływ na produkcję roślinną na całym świecie.

❖ **Stres w rolnictwie** został zidentyfikowany jako czynniki zewnętrzne, które mogą powodować nieprawidłowości w cyklu upraw.



❖ Jednym z mechanizmów stymulowania wzrostu roślin w warunkach stresowych jest zdolność bakterii do produkcji **enzymu deaminazy kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksylowego (deaminaza ACC)**, który reguluje syntezę etylenu przez metabolizowanie ACC (cząsteczka prekursorowa etylenu w roślinach wyższych).

❖ **Etylen** jest ważnym hormonem roślinnym, którego większe ilości hamują wzrost vegetatywny roślin. Rośliny poddane warunkom stresowym produkują etylen w dużych stężeniach. Obecność bakterii syntetyzujących deaminazę ACC, jest korzystna dla roślin w warunkach stresowych

CEL BADAŃ

Celem niniejszego badania była wstępna selekcja szczepów bakterii endofitycznych produkujących enzym deaminazę ACC (kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksylowego), który reguluje poziom inhibitora wzrostu roślin – etylenu i zwiększa tolerancję roślin na stres.

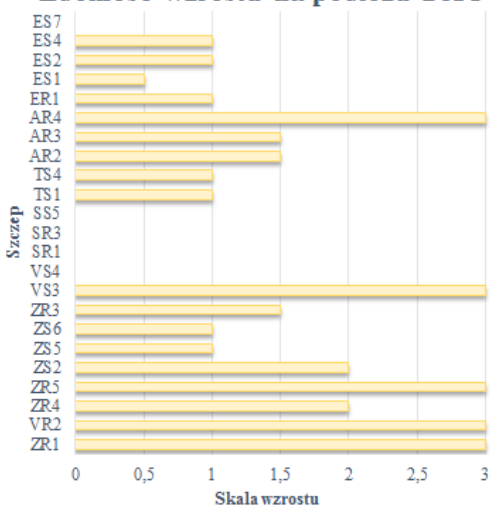
MATERIAŁY I METODY

Badania przeprowadzono na 23 szczepach bakterii endofitycznych zidentyfikowanych genetycznie w oparciu o analizę porównawczą sekwencji genu 16S rRNA. Wstępną selekcję szczepów wykonano w oparciu o klasyczną technikę płytek agarowych na podłożu zawierającym ACC jako jedyne źródło azotu. Następnie przeprowadzono amplifikację genu *acdS* (kodującego deaminazę ACC) techniką real-time PCR. Do amplifikacji genu wykorzystano startery F1936* i F1939*.

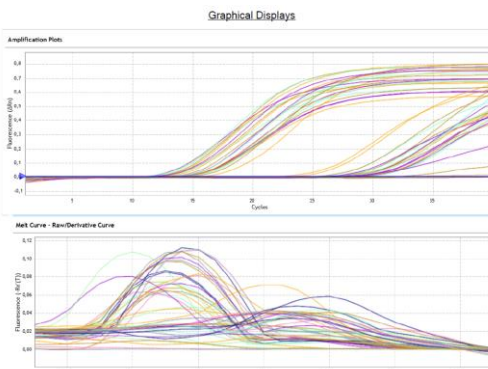
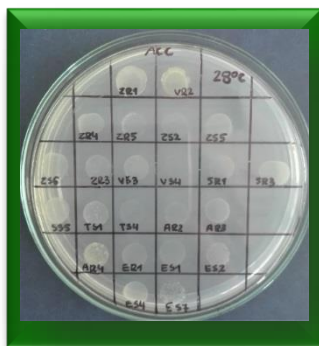
WYNIKI

Badane izolaty oceniono pod względem wzrostu na podłożu agarowym Dworkin-Foster zawierającym jako jedyne źródło azotu – ACC.

Zdolność wzrostu na podłożu z ACC



Zastosowano 3 stopniową skalę oceny wzrostu bakterii. Wyniki przedstawiono na wykresie.



Krzywe wygenerowane podczas reakcji PCR w czasie rzeczywistym: krzywa amplifikacji oraz krzywa topnienia produktów qPCR

Szczep	Cq	Tm
ZR1	23,17	88
ZR3	26,03	90
ZR4	29,25	89,5
ZR5	27,39	87,5
ZS2	29,44	89
ZS5	30,03	89
ZS6	29,08	89
VR2	27,34	81
VS3	28,24	81
VS4	27,27	89
SR1	29,87	85
SR3	33,47	81
SS5	36,65	89
TS1	30,12	86
TS4	27,07	90
ER1	26,04	85,5
ES1	24,16	85,5
ES2	28,05	89
ES4	28,38	89,5
ES7	29,65	90

PODSUMOWANIE



Na podstawie otrzymanych wyników analizy real-time PCR stwierdzono obecność genu *acdS* u wszystkich badanych szczepów, natomiast na podłożu agarowym z ACC, 5 izolatów nie wykazywało cech wzrostu. Wykonane testy jakościowe zostaną potwierdzone również analizą ilościową. Celem dalszych badań będzie dokładne określenie potencjału biotechnologicznego wyizolowanych szczepów w promowaniu wzrostu i rozwoju roślin m.in. zdolności do wiązania azotu atmosferycznego, zdolność do wytwarzania kwasu indolilo-3-octowego.