**STRESZCZENIE**

BAKTERIOCENOZY MAT MIKROBIALNYCH STREFY PROGLACJALNEJ LODOWCA EKOLOGII (WYSPA KRÓLA JERZEGO, ANTARKTYKA) - STRUKTURA TAKSONOMICZNA I POTENCJAŁ FIZJOLOGICZNY

Jakub Kowalik

Rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem dr hab. Doroty Górniak
i prof. dr hab. Aleksandra Świąteckiego
Katedra Mikrobiologii i Mykologii, Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie/ inna instytucja naukowa

Celem prowadzonych badań było poznanie struktury taksonomicznej i potencjału fizjologicznego bakteriocenoz mat mikrobialnych występujących w efemerycznych lotycznych i lenitycznych zbiornikach w strefie proglacjalnej Lodowca Ekologii (Wyspa Króla Jerzego, Antarktyka). Do osiągnięcia głównego celu wyznaczono cele szczegółowe, którymi były: a/ metagenomiczna analiza taksonomiczna bakteriocenozy badanych mat mikrobialnych w odniesieniu do struktury mikrobioty gleb, b/ izolacja i molekularna identyfikacja heterotroficznych szczepów bakterii pochodzących z mat mikrobialnych; utworzenie banku szczepów, c/ fenotypowy „fingerprinting"; analiza potencjału metabolicznego izolatów, d/ określenie potencjału środowiskowego izolatów: warunków wzrostu, odporności na zamarzanie i promieniowanie UV, oddziaływań antagonistycznych i właściwości bakteriobójczych, zdolności do adhezji i tworzenia biofilmu oraz oporności na antybiotyki. Dane metagenomiczne badanych mat mikrobialnych umożliwiły identyfikację bakterii należących do 12 typów. Charakterystyczną cechą bakteriocenoz badanych mat była wysoka obfitość sinic należących do rodzaju Phormidium, które stanowiły ponad 60% zidentyfikowanych sekwencji. Drugą grupą pod względem frekwencji były bakterie należące do typu Proteobacteria, które stanowiły ponad 20% zidentyfikowanych sekwencji. Wśród pozostałych taksonów przeważały bakterie należące do typów: Verrucomicrobia, Actinobacteria i Bacteroidetes. W porównaniu z matami potoków, w zbiornikach astatycznych stwierdzono kilkukrotnie wyższą liczebność odczytów sekwencji Actinobacteria, Planctomycetes, Verrucomicrobia oraz TM7. Zasadniczymi czynnikami środowiskowymi skorelowanymi ze strukturą taksonomiczną bakteriocenoz mat były właściwości fizykochemiczne i hydrologiczne zbiorników wodnych. W płynących, ubogich troficznie wodach potoków rozwijała się bardzo ograniczona strukturalnie bakteriocenoza mat. Bardziej złożony skład taksonomiczny występował w matach rozwijających się w zbiornikach astatycznych, charakteryzujących się wyższą koncentracją materii organicznej i mineralnej. W glebach wykazano bogate taksonomicznie zespoły bakterii należące do 23 typów. Stwierdzono współzależność strukturalną, pomiędzy bakteriocenozami mat i gleb. Na poziomie typów wszystkie zespoły bakterii tworzące mikrobiomy mat występowały również w glebach. Uzyskane wyniki potwierdziły sformułowaną hipotezę badawczą zakładającą istotną rolę bakteriocenozy gleby, która w procesie migracji i kolonizacji środowisk wodnych wpływa na strukturę i rozwój mat mikrobialnych.

Pochodzące z mat mikrobialnych szczepy bakterii charakteryzowały się znaczną aktywnością fizjologiczną i szerokim potencjałem metabolicznym, umożliwiającym wykorzystanie różnorodnych substratów. Liczne szczepy wykazywały zdolność do utylizacji mono– i disacharydów, cukroli, kwasów cukrowych, jak również aminokwasów, białek i tłuszczy. Statystycznie wyższą aktywnością charakteryzowały się szczepy izolowane z mat występujących w potokach. Ma to istotne znaczenie w rozwoju tych mikrobiocenoz w środowiskach o niskiej trofii. Szczególnie wysoki potencjał biochemiczny posiadały: *Arthrobacter psychrochitiniphilus, Rodoferax ferrireducens, Pseudomonas azotoformans* oraz *Pseudomonas poae*. Badania mat mikrobialnych wykazały występowanie licznych bakterii opornych na związki toksyczne i antybiotyki, wśród których znaczącą grupę stanowiły szczepy o szerokim spektrum antybiotykooporności. Zjawisko to może być uwarunkowane istnieniem w bakteriocenozach mat efektywnych procesów związanych z rozwijaniem naturalnej oporności oraz oporności nabytej w wyniku horyzontalnego transferu genów. Specyficzną cechą bakteriocenoz mat była odporność bakterii na działanie promieniowania UVB, którą stwierdzono u ponad 80% szczepów. Wskazuje to na występowanie mechanizmów ochronnych i naprawczych decydujących o przeżyciu bakterii w okresie intensywnej insolacji. Najwyższą odporność posiadały: *Salinibacterium xinjiangense, Arthrobacter scleromae, Pedobacter sp.* i *Bosea lathyri*. Istotnym przystosowaniem do warunków polarnych, szczepów bakterii izolowanych z mat była ich odporność na zamarzanie. Intensywne wytwarzanie białek przeciwlodowych wykazano u szczepów: *Rhodococcus erythropolis, Flavobacterium tiangeerense, Pedobacter terrae* oraz *Bosea lathyri.* Zdolności antagonistyczne wykazywała większość wyizolowanych z mat szczepów. Również większość badanych szczepów wykazywała zdolność do adhezji. Oba typy oddziaływań mają decydujące znaczenie w kształtowaniu struktury mat mikrobialnych, charakteryzujących się dużym zagęszczeniem bakterii i występowaniem silnych interakcji międzykomórkowych. Wykazana korelacja pomiędzy aktywnością antagonistyczną a opornością na antybiotyki potwierdziła istnienie intensywnych oddziaływań w bakteriocenozie mat. Wyodrębniono grupę szczepów bakterii z rodzajów Agreia, Pseudomonas i Flavobacterium, które hamowały wzrost fitopatogenów oraz potencjalnych patogenów zwierząt i ludzi w tym: *Agrobacterium tumefaciens, Erwinia carotovora, Escherichia coli, Pseudomonas fluorescens i Staphylococcus aureus*. Szczepy bakterii, u których ujawniono unikatowe cechy, zdolność do wytwarzania: białek przeciwlodowych, barwników ochronnych oraz związków antybakteryjnych stanowią cenny materiał w aplikacyjnych badaniach biotechnologicznych i medycznych.

Uzyskane wyniki potwierdziły przyjętą hipotezę badawczą, że bakteriocenozy mat mikrobialnych rozwijają się jako wyspecjalizowane strukturalnie i funkcjonalnie ekosystemy, charakteryzujące się wysokim potencjałem metabolicznym i środowiskowym. Potwierdzono hipotezę Baas-Beckinga wskazującą na rolę czynników środowiskowych w selekcji komponentów biotycznych mat mikrobialnych. Polarne maty mikrobialne są dynamicznymi, samoregulującymi się układami mikrobiocenotycznymi, w których dynamika pierwotnej i wtórnej produkcji oraz biokonwersji i regeneracji biogenów jest zrównoważona.