

Zróźnicowanie potencjału metabolicznego beztlenowych bakterii wyizolowanych z gleb poddanych stresowi symulowanej powodzi

Karolina Furtak

Zakład Mikrobiologii Rolniczej
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

WPROWADZENIE

W ramach prezentowanych badań poszukiwano bakterii glebowych odpornych na stres hydrologiczny wywołany nadmierną wilgotnością. Takie bakterie, posiadające mechanizmy pozwalające im przetrwać stres osmotyczny mogą być wykorzystane w dalszych badaniach o charakterze aplikacyjnym.

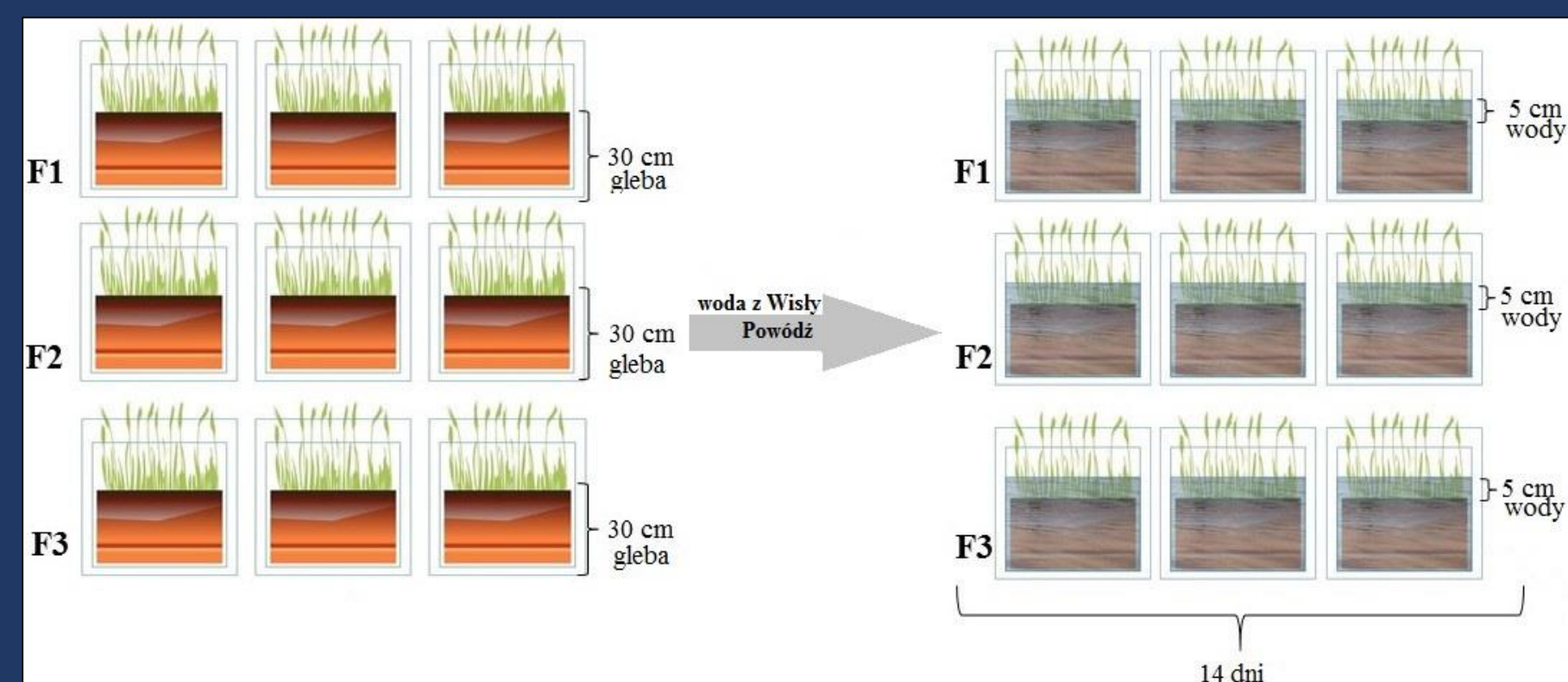


Figura 1. Schemat doświadczenia

MATERIAŁY I METODY

Modelowe doświadczenie pilotażowe przeprowadzono w formie *microcosm*, gdzie wyjściowy materiał stanowiły trzy różne mady rzeczne, które pobrano w formie bloków w 3 powtórzeniach wraz z roślinnością, a następnie umieszczono w pojemnikach i zalano wodą pobraną z Wisły tego samego dnia. Wodę utrzymywano na poziomie 5 cm ponad powierzchnią gleby (Figura 1).

W trakcie trwania doświadczenia z gleb pobrano próbki po 2, 4, 7, 12 i 14 dniach symulowanej powodzi, a następnie wykonano posiewy mikrobiologiczne na podłożu Wilkins Agar. Hodowle prowadzono w słojach z atmosferą beztlenową.

Policzono liczebność bakterii, a następnie wybrano różne morfologicznie kolonie. Uzyskano 11 czystych hodowli bakterii zróźnicowanych morfologicznie.

Bakterie poddano analizie profilu metabolicznego z wykorzystaniem mikroplitek AN MicroPlate Biolog® zgodnie z protokołem producenta. Odczyt spektrofotometryczny z wykorzystaniem MicroStation wykonano po 24 h inkubacji mikroplitek.

WYNIKI

Tabela 1. Liczebność bakterii beztlenowych oraz identyfikacja wyizolowanych szczepów wg Systemu Biolog®

Gleba	Zagospodarowanie	Czas zalania [dni]	Ilość bakterii [10^6 g s.m. gleby ⁻¹]	Wyizolowany szczep	Identyfikacja Biolog®
Mada lekka	Łąka	0	4,35	-	-
		2	15,69	F1/M/2/5	<i>Clostridium</i> sp.
		4	7,20	-	-
		7	6,78	-	-
		9	16,67	F1/M/9/17	nd
		12	5,64	-	-
		14	13,82	F1/M/14/25	nd
	Uprawa porzeczki czarnej	0	23,79	-	-
		2	10,93	-	-
		4	3,72	-	-
		7	17,56	F1/A/7/14-1 F1/A/7/14-2	nd nd
		9	7,17	F1/A/9/18	nd
		12	15,05	F1/A/12/22	<i>Clostridium</i> sp.
		14	9,62	-	-
Mada średnia	Łąka	0	23,69	-	-
		2	24,81	-	-
		4	4,70	F2/M/4/11	<i>Staphylococcus</i> sp.
		7	17,56	-	-
		9	26,59	F2/M/9/19	nd
		12	9,15	-	-
		14	16,54	-	-
	Uprawa porzeczki czarnej	0	34,05	-	-
		2	22,74	F2/A/2/8-2 F2/A/2/8-4	<i>Clostridium</i> sp. <i>Clostridium</i> sp.
		4	9,12	-	-
		7	10,36	-	-
		9	6,31	-	-
		12	9,05	-	-
		14	9,30	-	-

Identyfikacja bakterii za pomocą systemu Biolog® pozwoliła na przypisanie pięciu szczepów do rodzajów: *Staphylococcus* i *Clostridium* (Tabela 1).

Wartości indeksu AWCD były bardzo zróźnicowane i wynosiły od 0,035 do 0,284 (Figura 2). Najaktywniejszym szczepem okazał się F2/A/2/8-2, a najslabiej rosnącym F1/A/9/18.

Na płytce AN MicroPlate znajduje się 95 różnych substratów. Szczepy wykazały się bardzo zróźnicowanymi zdolnościami do ich rozkładu – indeks bogactwa (R) wynosił od 0 do 55 (Figura 2). Najwięcej substratów wykorzystywał szczep F2/A/2/8-2, a żadnego na poziomie $OD_{590} > 0,25$ nie rozkładał szczep F1/A/9/18.

Najintensywniej rozkładaną grupą substratów były węglowodany i glukozydy (36,84-51,83%), zaś najmniej polimery (0-1,57%). Co ciekawe, dwa szczepy – F1/A/9/18 oraz F2/A/2/8-4 – nie wykazały zdolności do rozkładu związków z grupy polimerów (Figura 3).

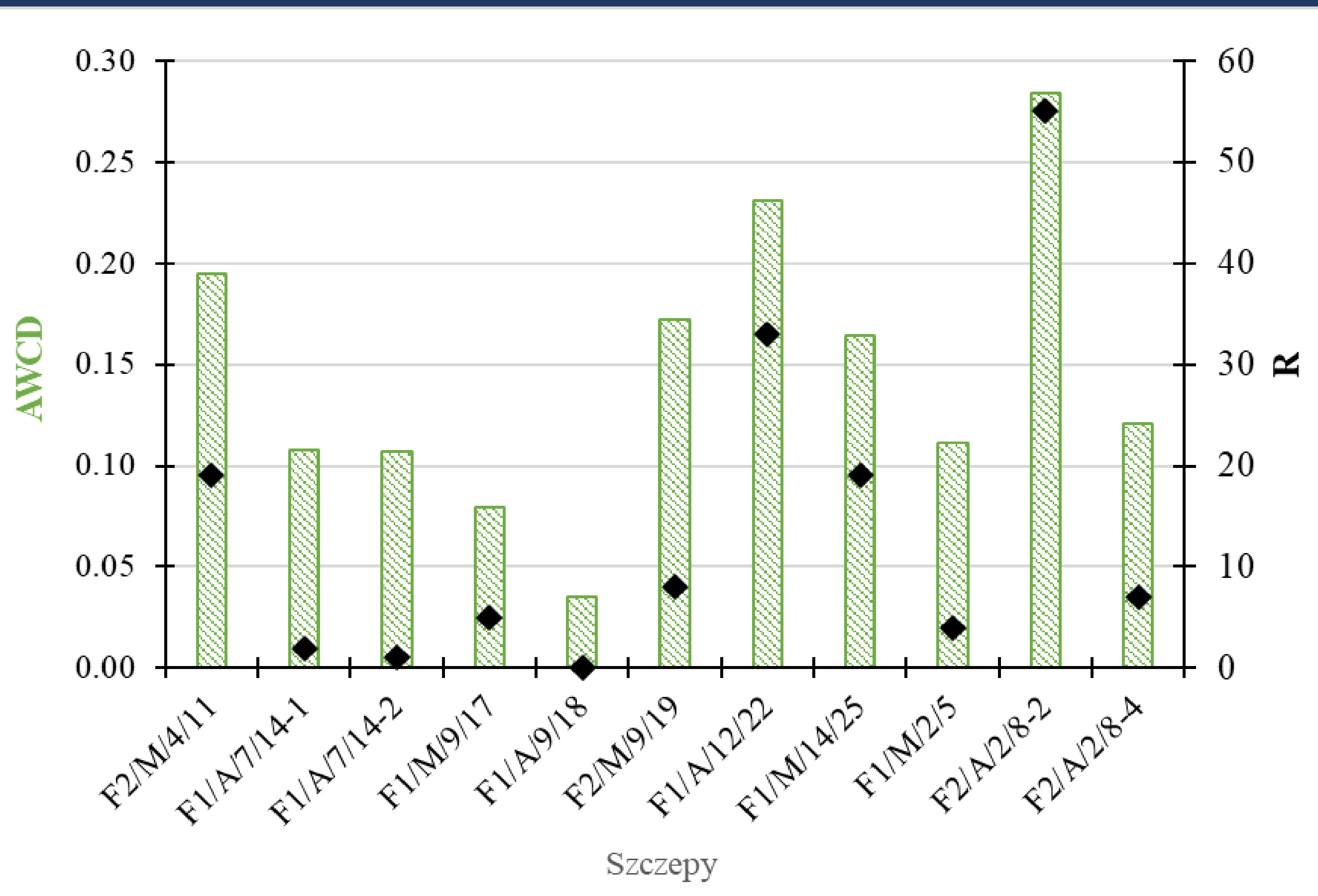


Figura 2. Wartości indeksu H' i R po 24 h inkubacji AN MicroPlate

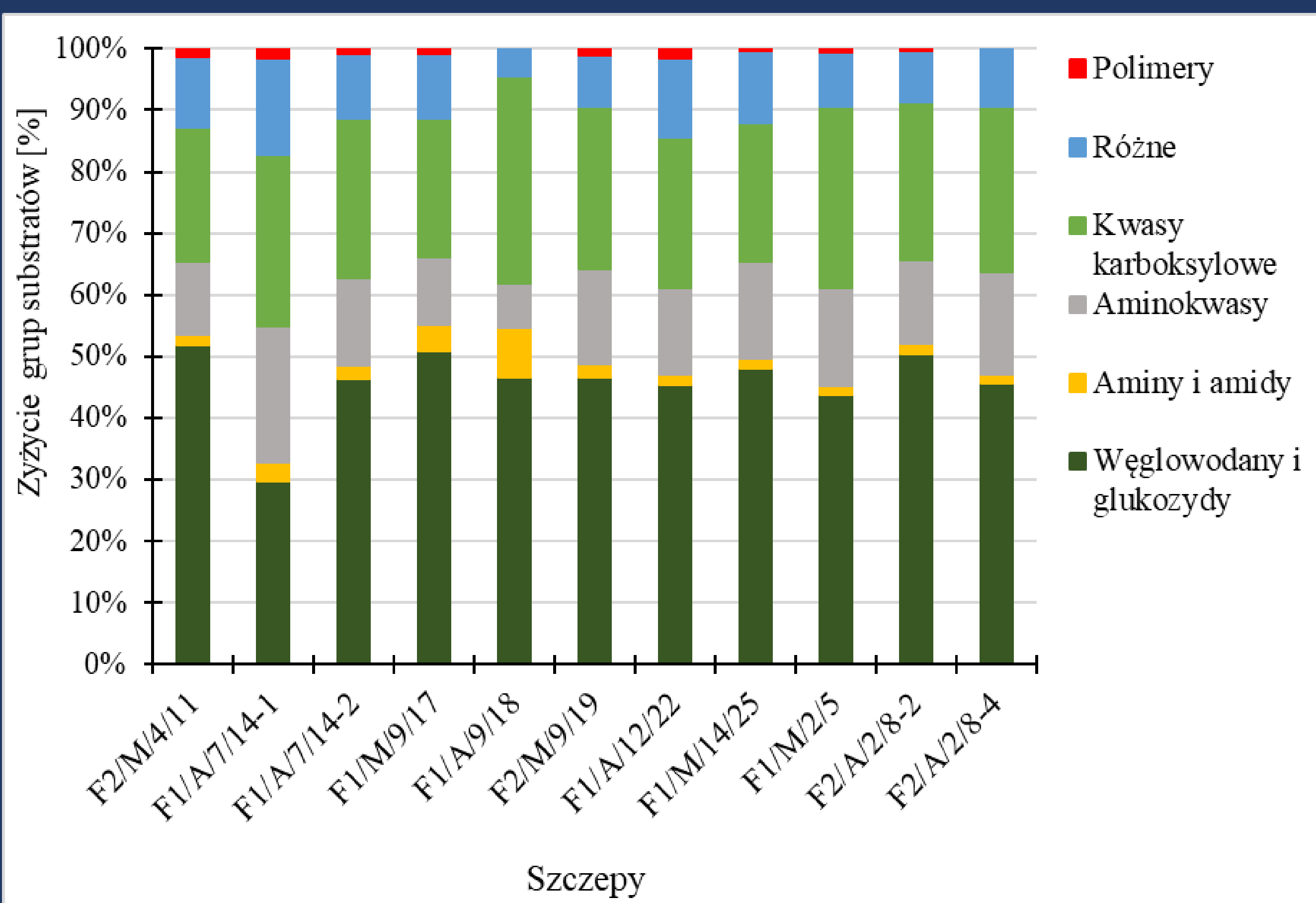


Figura 3. Zużycie grup substratów (%) przez poszczególne szczepy

PODSUMOWANIE

Uzyskane profile metaboliczne wskazują na duże zróźnicowanie pomiędzy szczepami, co może wskazywać na różne funkcje pełnione przez te bakterie w środowisku. Dalsze badania oraz identyfikacja taksonomiczna mogą odpowiedzieć na pytanie czy te bakterie posiadają potencjał biotechnologiczny.