

Streszczenie

Bakteryjne choroby roślin powodują istotne straty w rolnictwie ze względu na utratę plonów oraz obniżenie jakości produktów rolnych. Obecnie w celu ochrony roślin przed patogenami, światowa produkcja rolnicza polega głównie na zastosowaniu środków chemicznych (pestycydów), jednakże używanie tych substancji w dużych ilościach może prowadzić do poważnych problemów ekologicznych. Podejrzewa się, że zwiększanie oporności patogenów roślin na chemiczne środki ochrony roślin spowoduje zwiększenie częstotliwości występowania tych chorób w przyszłości. Doskonałym przykładem takiej choroby jest mokra zgnilizna ziemniaków powodowana przez bakterie pektynolityczne należące do grupy ang. Soft Rot *Pectobacteriaceae* (SRP: *Pectobacterium* spp. i *Dickeya* spp.). Do tej pory walka z mokrą zgnilizną polegała głównie na zapobieganiu zakażeniom, dobrych praktykach rolniczych i korzystaniu z materiału siewnego wolnego od patogenów.

Biologiczna ochrona roślin to przyjazna dla środowiska alternatywa w stosunku do metod chemicznych. Metoda ta wykorzystuje naturalną zdolność mikroorganizmów do wzajemnego hamowania wzrostu. Na przykład, pożyteczne bakterie, które produkują szerokie spektrum substancji antybiotycznych mogą być wykorzystane, aby zapobiec rozprzestrzenianiu się patogenów. Pomimo że jest to obiecująca metoda, jej zastosowanie jest ograniczone z uwagi na przeszkody techniczne.

Po pierwsze, większość badań z wykorzystaniem mikroorganizmów do takich celów kończy się zanim produkt zostanie opracowany i wprowadzony na rynek. Następnie, wybrane szczepy bakteryjne, zwykle nie są szczegółowo badane w warunkach polowych. W związku z tym, mimo zachęcających wyników badań wstępnych przeprowadzonych w warunkach laboratoryjnych, mogą one nie znaleźć prostego przełożenia na zysk ekonomiczny i działanie produktu powstałego z

zastosowaniem tych mikroorganizmów. Dodatkowo, większość prac eksperymentalnych przeprowadzana jest na pojedynczych szczepach, a nie mieszaninach różnych szczepów mikroorganizmów. Powodem tego stanu rzeczy, jest fakt, że produkty powstałe na bazie jednego typu mikroorganizmu są łatwiejsze w rejestracji i komercjalizacji. Jednakże takie produkty mają jednocześnie węższe spektrum działania niż te zawierające wiele szczepów mikroorganizmów w jednym preparacie.

Moja praca doktorska miała na celu opracowanie syntetycznego konsorcjum szczepów bakterii antagonistycznych względem bakterii SRP, opracowanie formułacji w celu zwiększenia stabilności półkowej mieszaniny, a następnie przetestowanie formułacji zawierającej syntetyczne konsorcjum w warunkach przechowywania ziemniaków.

Podczas prac eksperymentalnych na bulwach ziemniaka, na podstawie zdolności zahamowania symptomów chorobowych, wyselekcjonowano konsorcjum składające się z pięciu szczepów bakterii Gram ujemnych: *Serratia plymuthica* A294, *Lellitottia amnigena* A167, *Rahnella aquatilis* H145, *Serratia rubidaea* H440 and H469. Kolejno testowałem metody konserwacji mikroorganizmów w celu zwiększenia ich przeżywalności w formie proszków do sporządzania zawiesiny wodnej WP (ang. Wettable Powders). Następnie testowałem zastosowanie formułacji do ochrony ziemniaków w 6-cio miesięcznym eksperymencie prowadzonym w warunkach przechowalniczych. Na koniec badałem wybrane cechy składników konsorcjum, jak antagonizm względem bakterii powodujących mokrą zgniliznę SRP *in vitro*, oraz antagonizm poszczególnych szczepów względem pozostałych bakterii konsorcjum.

Pozyskane wyniki doprowadziły do opracowania syntetycznego konsorcjum, oraz formułacji, która może zostać wykorzystana do ochrony ziemniaków sadzeniaków w przechowywaniu przeciw mokrej zgniliznie. Wyniki zostały opublikowane w trzech eksperymentalnych artykułach naukowych.

Pierwsza praca opisuje wyselekcjonowanie i ocenę aktywności syntetycznego konsorcjum mikroorganizmów. Kolejna publikacja dotyczy opracowania, stworzenia i ewaluacji formułacji konsorcjum bakteryjnego. Ostatni artykuł opisuje genomy szczepów wchodzących w skład syntetycznego konsorcjum, oraz ich cechy genetyczne wybrane pod kątem istotności dla ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

Praktycznym aspektem mojej pracy doktorskiej jest przyznanie trzech patentów (dwóch Polskich, oraz jednego Europejskiego) opisujących: (i) wykorzystanie zaprojektowanego syntetycznego konsorcjum, (ii) sposobu formułacji konsorcjum w celu zwiększenia jego stabilności półkowej oraz (iii) odczynnika do liofilizacji, który został stworzony podczas tych badań.

Podsumowując, moje badania doprowadziły do opracowania i przetestowania innowacyjnego syntetycznego konsorcjum mikroorganizmów zawierającego pięć szczepów bakteryjnych, które może zostać użyte w celu ochrony ziemniaka przed bakteriami pektynolitycznymi *Pectobacterium* spp. i *Dickeya* spp w warunkach przechowalniczych. Podczas serii eksperymentów konsorcjum zostało zbadane pod względem aktywności i stabilności w formie preparatu, który może zostać wprowadzony na rynek. Dodatkowo szczepy bakteryjne konsorcjum zostały przetestowane pod kątem negatywnego wpływu na wzrost pozostałych jego składników oraz, czy ich aktywność wynika z kooperacji szczepów konsorcjum.

Przedstawione w tej pracy doktorskiej badania konsorcjów mikroorganizmów mogą pomóc w lepszym zrozumieniu interakcji pomiędzy bakteriami antagonistycznymi, zarówno w warunkach laboratoryjnych jak i w środowisku naturalnym.