

Biopreparaty do uprawy kukurydzy oparte na *Bacilli* – podejście -omiczne

Tomasz Grzyb^{1,2}, Filip Prucnal¹, Justyna Szulc¹



VIII OGÓLNOPOLSKIE SYMPOZJUM MIKROBIOLOGICZNE „METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK”



Wstęp

Globalne zaburzenie cykli biogeochemicznych stanowi jedno z największych wyzwań współczesności. Zjawisko to jest powiązane m. in. z przenawożeniem gleb nawozami syntetycznymi. Alternatywą dla nich mogą być biopreparaty.

Spośród bakterii wyizolowanych z pól uprawnych po zbiorze kukurydzy (woj. łódzkie) wyselekcjonowano 5 szczepów o najwyższym potencjale do rozkładu resztek pożywnych i stymulacji wzrostu kukurydzy. Następnie przeprowadzono analizy filogenomowe. Ponadto, poprzez eksplorację danych genomowych, określono potencjalne uzdolnienia metaboliczne szczepów. W dalszych badaniach eksperymentalnych zbadano wpływ mieszaniny 5 szczepów *Bacilli* stymulujących wzrost kukurydzy na różnorodność biologiczną mikrobioty glebowej – bakteriomu i mykobiomu – co określono za pomocą metataksonomiki opartej na regionach 16S rDNA bakterii oraz ITS grzybów. Ponadto, na podstawie badań metodą ilościowego PCR (qPCR) określono różnice w liczebności bakterii ogółem oraz przetrwalnikujących *Bacillota* w czasie, w zależności od (nie)zastosowania mieszaniny *Bacilli*.

Wyniki

Analizy filogenomowe

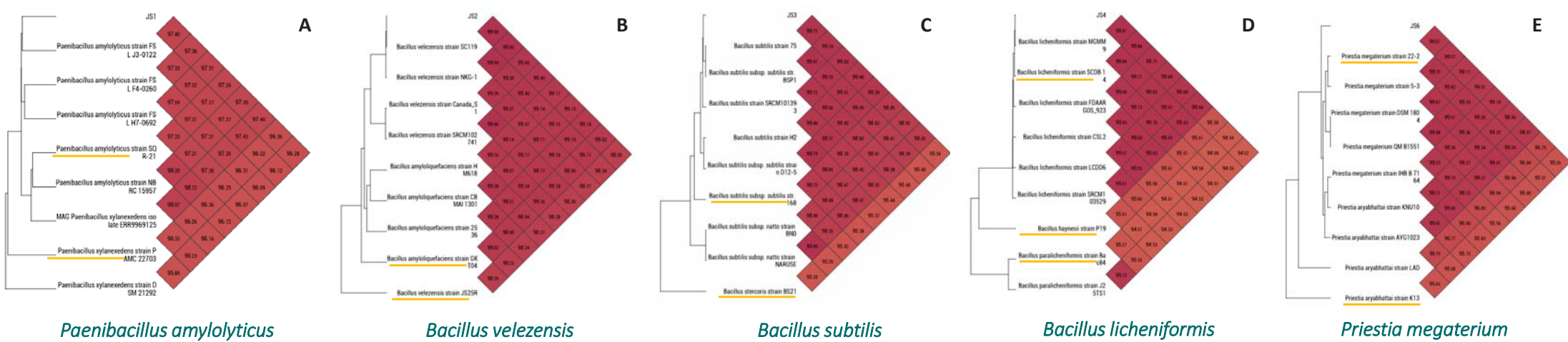


Fig 1 A-E. Identyfikacja filogenomowa z wykorzystaniem OrthoANI. Pomarańczową linią podkreślono genomy referencyjne (z bazy NCBI) dla danych gatunków.

Badania metataksonomiczne

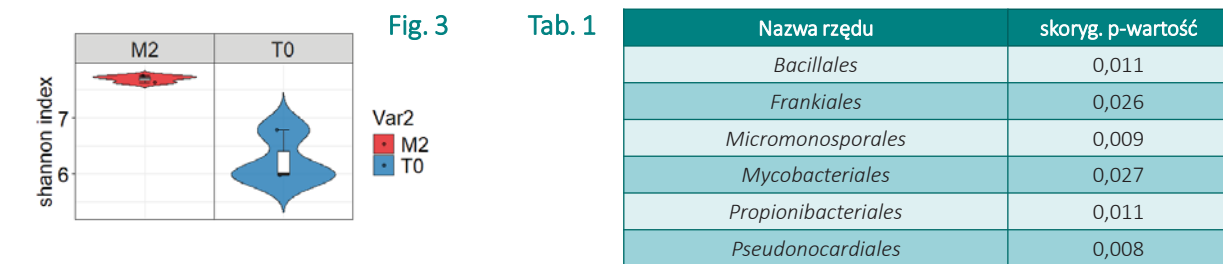
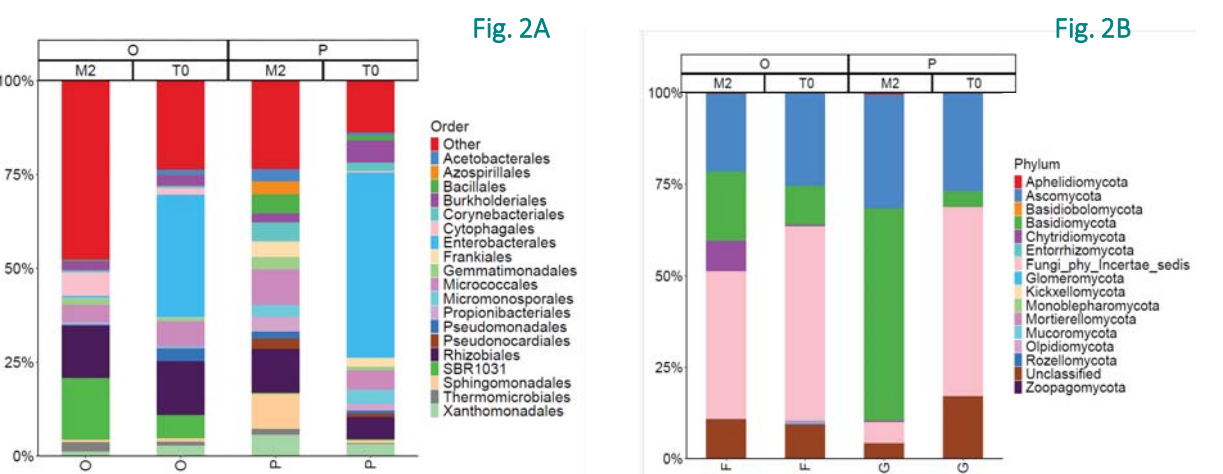


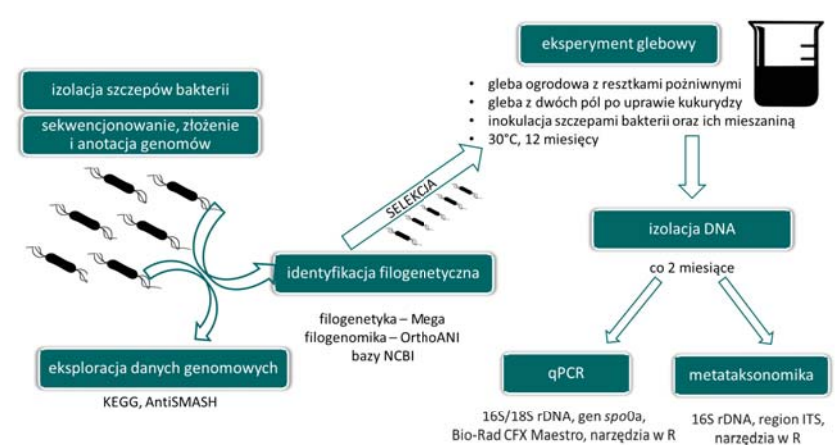
Fig. 2 Wykresy przedstawiające skład taksonomiczny gleby ogrodowej z dodatkiem resztek pożywnych (O) oraz gleby z pól po uprawie kukurydzy (P) w dniu inokulacji mieszaniną *Bacilli* (T0) oraz 2 miesiące po inokulacji (M2), (A) skład taksonomiczny bakterii na poziomie rzędu, (B) skład taksonomiczny grzybów na poziomie typu. Fig. 3 Wartości α -różnorodności wyznaczone na podstawie wskaźnika Shannona dla wszystkich typów gleb w dwóch różnych punktach czasowych.

Wnioski

- na podstawie analiz filogenomowych zidentyfikowano szczepy bakterii stymulujących wzrost kukurydzy i rozkładających resztki pożywnych,
- szczepy produkują metabolity wtórne zaangażowane w interakcje międzygatunkowe w ramach mikrobiomu – siderofory/metalofory oraz związki o właściwościach –bójczych,
- zawartość poszczególnych taksonów bakteriomu glebowego różni się pomiędzy glebą z pól po uprawie kukurydzy a glebą ogrodową z dodatkiem resztek pożywnych,
- dla sporej części mykobiomu glebowego identyfikacja była niemożliwa już na poziomie typów,
- biopreparat w postaci mieszaniny *Bacillales* zwiększał α -różnorodność bakterii glebowych w czasie,
- zastosowanie biopreparatu miało znaczący wpływ na liczebność ogółu bakterii oraz przetrwalnikujących *Bacillota* po 2 miesiącach od inokulacji.

Badania realizowane w ramach projektu: „Innowacyjna technologia i organizacja uprawy kukurydzy wsparta biologicznie” nadzorowanego przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach działania „Współpraca” Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich (PROW) na lata 2014-2020 zgodnie z umową nr 00077.DDD.6509.000167. 2022.05 z 14.04.2023.

Metodyka



Analiza metabolitów wtórnych

Tab. 2

właściwości związku	nazwa	nr szczepu				
		1	2	3	4	5
metalofor/siderofor	bacillibaktyna		+	+	+	
	bacillopalina	+				
	schizokinen					+
wiązanie żelaza, przeciwbakteryjny	kwas pulcherrimowy			+	+	
przeciwbakteryjny, przeciwwirusowy	surfaktyna		+			
przeciwbakteryjny, przeciwwirusowy	bacilizyna		+	+		
przeciwbakteryjny	fengicyna		+	+		
przeciwbakteryjny	polimyksyna	+				
	bacillen		+	+		
	makrolaktyna H		+			
	subtilizyna A				+	
	lichenicydyna					+
	sporulation killing factor			+		
	paenινόdyna	+				+

Tab. 1 Nazwy taksonów na poziomie rzędu, dla których w analizie różnicowej wykazano istotne statystycznie różnice pomiędzy glebą ogrodową z dodatkiem resztek pożywnych a glebą z pól po uprawie kukurydzy.

Tab. 2 Zestawienie profili metabolitów wtórnych stworzonych z wykorzystaniem oprogramowania AntiSMASH; 1 – *Paenibacillus amylolyticus*, 2 – *Bacillus velezensis*, 3 – *Bacillus subtilis*, 4 – *Bacillus licheniformis*, 5 – *Priestia megaterium*.

Badania qPCR

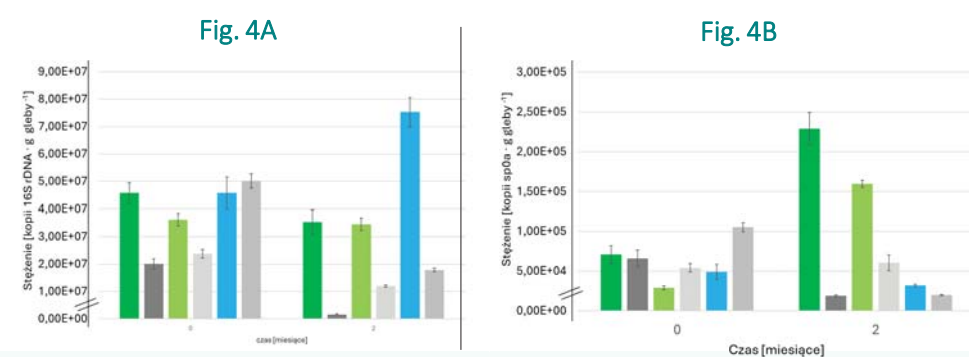


Fig 4. Liczba kopii na gram gleby dla genu 16S rDNA (A) (oznaczenie ogólnej liczebności bakterii) oraz genu *spoOA* (B) (oznaczenie ogółu przetrwalnikujących *Bacillota*).