

Bakterie żyjące w środowiskach naturalnych rzadko występują w formie planktonicznych, „pływających”, komórek, jakie najczęściej hodowane są w laboratoriach badawczych. Częściej tworzą wielokomórkowe konsorcja przytwierdzone do różnych powierzchni, zarówno sztucznych (metal, szkło, plastik, protezy dentystyczne, przewody dializatorów), jak i naturalnych (np. tkanki roślinne i zwierzęce), budując skomplikowane struktury zwane biofilmami. To, czy bakterie osiadną na danej powierzchni i utworzą biofilm, zależne jest od wielu czynników środowiskowych, takich jak dostępność określonych substancji odżywczych, temperatury otoczenia, obecności innych organizmów (np. roślin-gospodarzy, czy konkurencyjnych szczepów bakterii, w tym patogenów) oraz czynników związanych z tłem genetycznym, charakterem i budową komórki danego gatunku czy szczepu bakterii. Mechanizm tworzenia biofilmu jest więc niezwykle złożony i zróżnicowany, częściowo opisany jedynie dla najlepiej zbadanych gatunków bakterii.

Celem prezentowanego projektu jest zidentyfikowanie genów i mechanizmów rządzących procesem tworzenia biofilmu przez pożyteczny, wyizolowany ze strefy przykorzeniowej pomidora, szczep bakterii *Pseudomonas donghuensis* P482, na różnego typu powierzchniach (plastik, szkło, tkanki roślin) w zależności od zróżnicowanego wpływu otoczenia. Szczep ten jest niezwykle interesujący pod względem badawczym, ponieważ skutecznie hamuje wzrost wielu bakteryjnych i grzybowych patogenów roślin, a podłoże tej aktywności jest ciągle niepoznane – nie produkuje on substancji o charakterze antybiotycznym, typowych dla innych gatunków bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. Z dotychczasowych badań wynika, że może on tworzyć biofilm na powierzchni szkła i plastiku oraz skutecznie kolonizować korzenie wielu uprawnych roślin, takich jak ziemniak, pomidor, kukurydza, co może ułatwiać ich ochronę przed patogenami. W ramach proponowanych badań chcemy dowiedzieć się, od czego zależy zdolność tworzenia biofilmu na tak różnych powierzchniach oraz w jaki sposób będzie ona modulowana, jeżeli zmienimy warunki, w jakich badany przez nas szczep będzie przebywać. Dla zrealizowania celów badawczych zastosujemy szereg metod biologii molekularnej, dzięki którym uzyskamy mutanty szczepu P482, z wyłączonymi określonymi genami, których produkty mogą być odpowiedzialne za tworzenie biofilmu. Mutanty te następnie będą analizowane pod kątem zdolności do tworzenia biofilmu z wykorzystaniem nowoczesnych metod mikroskopii konfokalno-fluorescencyjnej, pozwalających na obserwację bakterii wyznakowanych fluorescencyjnie („świeących”) na różnych podłożach. Zbadamy także poziom ekspresji poszczególnych genów, tzn. zmianę w ilości syntetyzowanego w komórce matrycowego RNA (co może przekładać się na ilość syntetyzowanego białka), w odpowiedzi na zmienne warunki hodowli i/lub kontakt z rośliną czy bakteriami patogennymi za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą (RT-qPCR).

Wyniki uzyskane w badaniach powinny poszerzyć naszą wiedzę dotyczącą mechanizmów zaangażowanych w proces formowania biofilmu przez interesujący nas szczep *P. donghuensis* P482, ale także ogólnej regulacji tego procesu w bakteriach. Doświadczenia prowadzone w obecności gospodarzy roślinnych powinny rzucić światło na proces kolonizacji tkanek roślin przez pożyteczne szczepy bakterii, a także pozwolić lepiej zrozumieć interakcje (kompetycję) z bakteriami patogennymi. Wyniki te mogą przyczynić się także do lepszego zrozumienia oddziaływań bakterie-roślina na poziomie komórkowym i molekularnym.