

Gleba jest zróżnicowana pod względem substancji odżywczych i parametrów fizyko-chemicznych, co sprzyja jej zasiedlaniu przez ogromną liczbę drobnoustrojów, w tym także przez bakterie klasyfikowane do grupy *Bacillus cereus*, zwanej też *Bacillus cereus sensu lato*. *B. cereus s.l.* to gramododatnie laseczki, z których największe znaczenie mają owadobójczy *Bacillus thuringiensis*, oportunistyczny enteropatogen *Bacillus cereus sensu stricto* (*B. cereus*) zdolny do wywoływania infekcji przewodu pokarmowego i zatruc pokarmowych i *Bacillus anthracis* wywołujący węglik o potencjalnym wykorzystaniu jako broń biologiczna (nie był izolowany w trakcie naszych ponad 15-letnich badań). Grupa obejmuje też psychrotolerancyjny *Bacillus weihenstephanensis*, który może znacząco obniżać jakość żywności przechowywanej w niskich temperaturach oraz *Bacillus pseudomycooides* i *Bacillus mycooides* (często określane wspólnie *B. mycooides*) wytwarzające ryzoidalne kolonie i prawdopodobnie produkujące substancje wspomagające wzrost drzew iglastych. W ostatnich latach z *B. cereus* wydzielono *Bacillus cytotoxicus*, bakterię odpowiedzialną za ostre infekcje szpitalne oraz gatunek *Bacillus toyenensis*, wykorzystywany jako probiotyk w paszy dla zwierząt.

Powyższa krótka charakterystyka wyjaśnia ogromne zainteresowanie *B. cereus s.l.*, a przede wszystkim *B. cereus*, *B. thuringiensis* i *B. anthracis*, z punktu widzenia medycyny, weterynarii i rolnictwa. Natomiast nie jest zrozumiałe małe zainteresowanie tymi bakteriami pochodzącymi ze środowisk naturalnych. Jednakże wyniki naszego wcześniejszego projektu badawczego wskazały (i) z jednej strony polimorfizm genetyczny wybranych gatunków tych bakterii, mierzony wysoką liczbą typów genetycznych (identyfikowanych na podstawie sekwencji nukleotydowych siedmiu genów metabolizmu podstawowego), a (ii) z drugiej strony ograniczoną liczbę wspólnych typów genetycznych wśród bakterii z różnych środowisk, a nawet klasyfikowanych do jednego gatunku. Pod tym względem wyróżnia się populacja z rezerwatu ścisłego Białowieskiego Parku Narodowego (BPN), dla której wykazaliśmy statystycznie istotnie wyższą liczbę odmiennych typów sekwencyjnych niż dla bakterii z Biebrzańskiego Parku Narodowego oraz gospodarstwa rolnego. Problem badawczy, który pojawia się świetle tych wyników to: czy istnieje zależność pomiędzy genomiką i właściwościami metabolicznymi *B. cereus s.l.* a środowiskiem bytowania. Wyjaśnienie tego problemu wymaga analizy dynamiki pangenomów (suma wszystkich genów wśród bakterii danej populacji) i proteomów (białka bakteryjne poszczególnych szczepów) bakterii ze skrajnie zróżnicowanych środowisk. Dążąc do wyjaśnienia tego problemu przedstawiamy projekt, którego celem jest znalezienie zależności pomiędzy dynamiką pangenomów i proteomów a środowiskiem poprzez (i) zdefiniowanie pangenomów najczęściej izolowanych przedstawicieli tej grupy bakterii ze środowiska pierwotnego i zmienionego antropologicznie (ii) wyznaczenie genów rdzeniowych oraz stopnia zmienności pozostałych genów tych bakterii w zależności od miejsca izolacji i klasyfikacji gatunkowej oraz (iii) wskazanie specyficznych ekotypów metabolicznych poprzez analizy ich profili biochemicznych i proteomu.

Realizacja projektu pozwoli na weryfikację dwu hipotez badawczych: (H1) Pangenomy *B. cereus s.l.* ze środowisk zdegradowanych ekologicznie wykazują mniejszy poziom zmienności niż pangenomy tych bakterii ze środowisk pierwotnych oraz (H2) Wśród *B. cereus s.l.* występują specyficzne ekotypy metaboliczne związane z właściwościami środowiska, a wynikające z sumy cech kodowanych przez chromosom i plazmidy. Hipotezy będą testowane w odniesieniu do *B. cereus*, *B. weihenstephanensis*, *B. thuringiensis* i *B. mycooides* z gleby BPN (środowisko pierwotne; gleba organiczna) oraz gospodarstwa rolnego Jasienówce (środowisko zmienione działalnością człowieka; gleba mineralna), różniące się antropopresją, właściwościami fizyko-chemicznymi oraz poziomem substancji odżywczych. W pierwszym etapie z puli szczepów *B. cereus s.l.* wyizolowanych w trakcie wcześniejszych badań, wyselekcjonujemy te o odmiennych typach metabolicznych, następnie zsekwencjonujemy genomy tych bakterii, a wyniki poddamy analizie bioinformatycznej, co pozwoli na określenie wielkości i struktury pangenomu, w tym geny rdzeniowe i alternatywne oraz wyznaczenie typów plazmidów (metaboliczne, wirulencji, koniugacyjne, kryptyczne). Następnie przeprowadzimy analizy białek komórkowych oraz wydzielanych pozakomórkowo oraz oszacujemy odpowiedzi *B. cereus s.l.* na zmienne warunki wzrostu na poziomie proteomu.

Niniejszy projekt jest pionierski w dążeniu do pełnego poznania ekologii *B. cereus s.l.* Zastosowanie innowacyjnych technik biologii molekularnej przyczyni się do poznania wielu aspektów funkcjonowania tych bakterii w środowisku. Wziąwszy pod uwagę znaczenie *B. cereus s.l.*, grant może mieć wpływ na wiele dziedzin ludzkiego życia i rozwój społeczny oraz na zrozumienie przez społeczeństwo jego roli w zachowaniu bioróżnorodności mikrobiologicznej i funkcjonowaniu ekosystemów.