

Biologia i systematyka antarktycznych szczepów bakterii kwasu mlekowego z rodzaju *Carnobacterium* w świetle analiz fenotypowych i genomicznych.

Terytorialne środowiska polarne, reprezentowane głównie przez pustynie lodowe i obszary pokryte wieczną zmarzliną, charakteryzują się występowaniem bardzo ciężkich warunków klimatycznych. Warunki te skutkują znaczącym uproszczeniem struktur glebowych. Podobna charakterystyka dotyczy terytoriów post-glacialnych, które pojawiają się w wyniku cofania się czoła lodowca. Miejsca ustąpienia lądolodu stanowią rezerwuuar wielu ekosystemów o małej bioróżnorodności i uproszczonych strukturach troficznych. W literaturze naukowej polodowcowe struktury glebowe terytorialnych obszarów Arktyki i Antarktydy są scharakteryzowane jako słabe źródło zbiorowisk bakteryjnych. Jedyne znane gatunki bakterii, które są izolowane z próbek polarnych gleb ornitogenicznych, są szczepy należące do promieniowców (głównie *Actinomyces* spp.) oraz proteobakterii (*Podobacter* spp., *Pseudomonas* spp.). Źródła naukowe wskazują, że polarne struktury glebowe mogą być również miejscem bytowania bakterii, które normalnie występują w środowisku o dużej dostępności składników odżywczych. Przykładem są bakterie kwasu mlekowego (LAB od ang. Lactic Acid Bacteria) z rodzaju *Carnobacterium*.

W chwili obecnej znanych jest trzynaście gatunków z rodzaju *Carnobacterium*, które mogą być izolowane z różnych źródeł, m.in. układu pokarmowego ryb, pakowanej próżniowo lub rozmrażanej żywności, beztlenowych zbiorników wodnych, jak również terenów wiecznej zmarzliny. W środowiskach polarnych, bakterie z rodzaju *Carnobacterium* izolowane są z głębinowych wód jezior lodowcowych oraz z przewodów pokarmowych morskich ryb arktycznych. Cechami charakterystycznymi tych środowisk są przede wszystkim warunki beztlenowe oraz stosunkowo duża ilość składników odżywczych. Jak do tej pory, w literaturze naukowej nie ma żadnych informacji o izolacji szczepów *Carnobacterium* spp. z środowisk glebowych. Ponadto, dostępne artykuły zawierają charakterystyki podstawowych cech geno- i fenotypowych, które w małym stopniu próbują wyjaśnić, jakie mechanizmy biorą udział w przystosowaniu bakterii z grupy LAB do bytowania w środowiskach polarnych.

Z tego powodu, głównym celem proponowanego projektu jest dokonanie szczegółowej analizy genotypowej i fenotypowej dziesięciu szczepów bakterii kwasu mlekowego, wyizolowanych z nieraportowanego jak dotąd w literaturze naukowej miejsca bytowania- ornitogenicznych struktur glebowych post-glacialnych terenów Arktyki i Antarktydy. Planowane zadania obejmują określenie przynależności rodzajowej i gatunkowej wszystkich wyizolowanych szczepów LAB oraz szczegółowe testy właściwości biochemicznych w celu scharakteryzowania jak dotąd słabo poznanej grupy bakterii. Identyfikacja przynależności gatunkowej zostanie przeprowadzona z wykorzystaniem szerokiego podejścia analiz genetycznych, obejmujących m.in. sekwencjonowanie genomowego i plazmidowego DNA wybranych szczepów, analizę bioinformatyczną pod kątem przygotowania szczegółowej charakterystyki genów, badania filogenetyczne genów metabolizmu podstawowego oraz polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (ITS-RLFP). W testach właściwości fenotypowych, szczepy bakterii zostaną scharakteryzowane pod kątem identyfikacji mechanizmów, umożliwiających bytowanie w środowiskach polarnych. W oparciu o zastosowanie wysokoprzepustowej techniki mikromacierzy fenotypowych, zbadane zostaną wykorzystywane źródła węgla, azotu, siarki, fosforu, oporność względem związków osmolitycznych, antybiotycznych i bakteriostatycznych. W oparciu o klasyczne metody mikrobiologii, zbadana zostanie aktywność enzymatycznej, tolerancja na różne stopnie zasolenia i zakwaszenia, oporność na stres środowiskowy oraz produkcja związków o charakterze przeciwdrobnoustrojowym.

Przeprowadzenie szczegółowych badań identyfikacji przynależności gatunkowej pozwoli na identyfikację zależności ewolucyjnych oraz pokrewieństwa filogenetycznego wyizolowanych szczepów względem znanych bakterii z rodzaju *Carnobacterium* spp. Pozwoli nam również na sprawdzenie, czy post-glacialne środowiska polarne stanowią źródło nowych gatunków bakterii mlekowych. Analizy biochemiczne pod kątem poszukiwania i charakterystyki unikatowych cech fenotypowych stworzą natomiast szansę poznania mechanizmów, warunkujących przystosowanie omawianych szczepów do bytowania w ekstremalnych warunkach środowisk polarnych. Całość proponowanych badań stworzy szansę znaczącego poszerzenia stanu wiedzy na temat szczepów bakterii mlekowych bytujących w nieraportowanych jak dotąd środowiskach polarnych oraz przyczyni się do poznania mechanizmów, warunkujących przystosowanie omawianych szczepów do bytowania w ekstremalnych warunkach środowisk polarnych.