

STRESZCZENIE

Choroby roślin wywoływane przez patogeny glebowe, w tym grzyby, stanowią poważny problem w rolnictwie. Powszechnie stosowane chemiczne środki ochrony roślin, w tym fungicydy, ze względu na małą wybiórczość oraz toksyczne oddziaływanie na organizmy, nie pozostają obojętne dla środowiska. Stąd też, mikroorganizmy wykazujące oddziaływania antagonistyczne wobec fitopatogenów stanowią pożądaną alternatywę, pozwalającą na ograniczenie stosowania środków chemicznych. Obecnie szczególną uwagę zwraca się na, naturalnie zasiedlające rośliny, bakterie endofityczne, które dzięki aktywności przeciwdrobnoustrojowej, ścisłym oddziaływaniom z roślinami oraz zdolności do wspomagania ich ogólnoustrojowej odporności mogą pełnić istotną rolę w procesach biologicznej ochrony roślin.

Głównym celem niniejszej pracy była identyfikacja mechanizmów warunkujących wysoką aktywność biologiczną endofitycznych szczepów *Pseudomonas fluorescens* BRZ63 wyizolowanego z korzeni rzepaku (*Brassica napus* L.) i *Serratia quinivorans* KP32 wyizolowanego z korzeni pietruszki (*Petroselinum crispum* L.). Podjęto próbę poznania i zrozumienia podstaw antagonistycznych oddziaływań między tymi endofitami i zróżnicowanymi taksonomicznie fitopatogenami grzybowymi na poziomie molekularnym. Ponadto określono zdolność badanych szczepów bakterii do kolonizacji wewnętrznych tkanek roślin oraz ich wpływ na wzrost i ochronę rzepaku przed *Rhizoctonia solani*.

Badane szczepy wykazywały zróżnicowaną aktywność przeciwko *Rhizoctonia solani* W70, *Colletotrichum dematium* K, *Fusarium avenaceum* i *Sclerotinia sclerotiorum* K2291, a ich zdolność do hamowania wzrostu tych fitopatogenów wynikała z szerokiej gamy cech warunkujących oddziaływania antagonistyczne. Analizy genomów badanych szczepów bakterii pozwoliły na identyfikację genów warunkujących różne mechanizmy biokontroli, w tym: konkurencję o przestrzeń życiową i składniki pokarmowe, produkcję antybiotyków, produkcję enzymów degradujących ściany komórkowe patogenów oraz produkcję lotnych związków. Ponadto w genomach obu szczepów zidentyfikowano geny kodujące szeroki wachlarz mechanizmów determinujących zdolność do kolonizacji i promocji wzrostu roślin. Badane szczepy bakterii wykazywały różnice w poziomie ekspresji genów zaangażowanych w mechanizmy biokontroli, w odpowiedzi na badane fitopatogeny. Analiza ekspresji genów u szczepu BRZ63 w odpowiedzi na obecność grzybowych filtratów wykazała istotne zmiany w poziomie transkrypcji genów zaangażowanych w produkcję piowerdyny i wiskozyny. Z kolei u szczepu KP32 wykazano istotne zmiany w transkrypcji genów kodujących chitynazy, jak

również zaangażowanych w biosyntezę cyjanowodoru, enterobaktyny oraz acetoiny, co wskazuje na udział różnych mechanizmów w hamowaniu wzrostu badanych fitopatogenów. Przeprowadzone testy biochemiczne, potwierdziły u badanych szczepów bakterii szereg aktywności warunkujących efektywną kolonizację tkanek roślinnych, w tym zdolność do aktywnego ruchu, produkcję celulaz oraz enzymów antyoksydacyjnych (katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej), produkcję egzopolisacharydów, autoagregację i tworzenie biofilmu. Efektywne właściwości kolonizacyjne szczepów BRZ63 oraz KP32 zostały potwierdzone mikroskopowymi obserwacjami komórek bakterii wyznakowanych białkiem EGFP, zasiedlających powierzchnię oraz wewnętrzne tkanki modelowej rośliny *Arabidopsis thaliana* Col-0 oraz *Brassica napus* L. Ponadto stwierdzono, iż inokulacja gleby szczepami BRZ63 oraz KP32, które wykazywały zdolność do swobodnego przechodzenia z tkanek roślinnych do gleby i z gleby do rośliny, przyczynia się do przyrostu masy korzeni i pędów roślin nawet w obecności *R. solani*.

Aktywność biologiczna badanych szczepów *P. fluorescens* BRZ63 i *S. quinivorans* KP32 oraz ich zdolność do efektywnej kolonizacji i przeżywania w tkankach roślin oraz glebie wskazuje, iż mogą one, zgodnie z ogólnymi zasadami integrowanej ochrony roślin, znaleźć potencjalne zastosowanie jako aktywne czynniki biopestycydów.