



Pomimo licznych korzyści zdrowotnych, *microgreens* są wysoce wrażliwe na stresy abiotyczne, szczególnie na stres suszy, co prowadzi do szybkiej utraty świeżości produktu oraz podatności na gnienie i wędnięcie. Dostępne dane literaturowe dostarczają ograniczonych informacji związanych z tym wyzwaniem w hodowli *microgreens*. Jednakże badania nad niektórymi gatunkami mikroorganizmów, zwłaszcza bakteriami, wskazują na nabywanie obiecujących mechanizmów adaptacyjnych przez rośliny, w wyniku inokulacji wyselekcjonowanymi szczepami, co skutkuje wydłużeniem okresu świeżości produktu. Prace badawcze sugerują, że wprowadzenie bakterii z rodzaju *Bacillus* ma korzystny wpływ na rośliny poddane stresowi suszy, oraz znacząco wpływa na utrzymywanie ich świeżości.

Cel badawczy

Celem przeprowadzanych badań była analiza funkcjonalna całych genomów 11 szczepów bakterii z rodzaju *Bacillus*, wyselekcjonowanych z kiszzonek oraz produktów mlecznych, wykonana przy użyciu platformy Illumina, w celu selekcji izolatu o najlepszym profilu genetycznym w kontekście inokulacji *microgreens*.

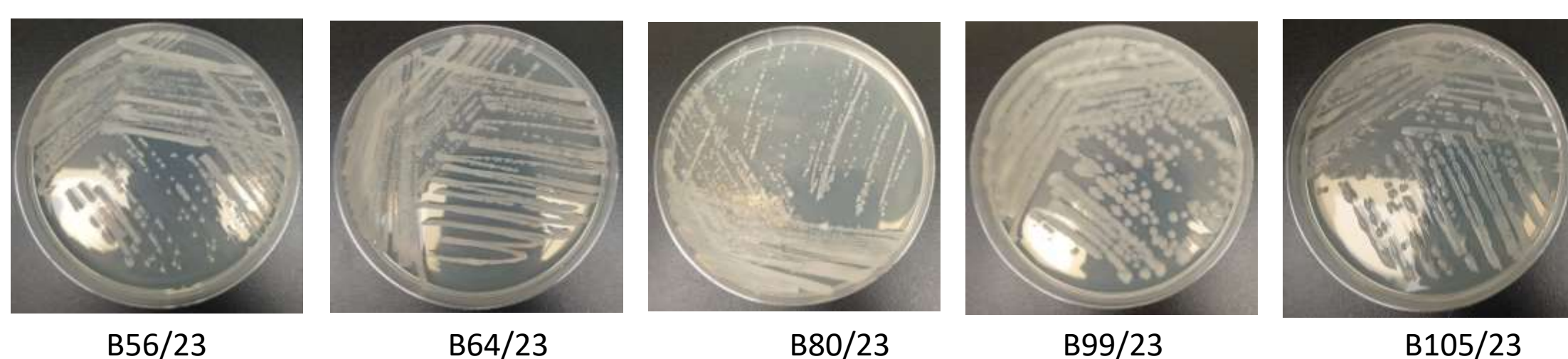
Metody

Z 11 szczepów: B28/13, B54/23, B55/23, B56/23, B64/23, B80/23, B99/23, B102/12, B105/23 oraz B107/23 wyizolowano DNA przy użyciu PrepMan Ultra DNA Extraction Kit [Applied Biosystems], zgodnie z protokołem producenta. Jakość i ilość wyizolowanego DNA określono w oparciu o pomiary przeprowadzone na spektrofotometrze Nanodrop oraz fluorometrze Quantus. Biblioteki genomowe zostały skonstruowane przy użyciu zestawu DNA Illumina Nextera XT, zgodnie ze standardowym protokołem dostarczone przez producenta. Przygotowane biblioteki zostały załadowane na platformę Illumina MiSeq. Sekwencjonowanie przeprowadzono z długością odczytu 2x150 bp w celu uzyskania wysokiego poziomu pokrycia. Dane surowe zostały poddane analizie z użyciem odpowiednich narzędzi, której głównymi etapami było oczyszczanie [SPades software], klasyfikacja taksonomiczna [Kraken], adnotacja genomu [Prokka, Phigaro], analiza funkcjonalna [PGI, Prokka] oraz kontrola jakości [Quast, FastAni]. Otrzymane dane zostały poddane analizie, której celem było zidentyfikowanie obecności jak największej ilości genów związanych z kolonizacją tkanek roślinnych, wspomaganie procesów wzrostu, pobieraniem składników odżywczych, oporności względem stresów biotycznych i abiotycznych, interakcji w obrębie holobiontu, ale również genów antybiotykoodporności oraz oporność na pestycydy/herbicydy.

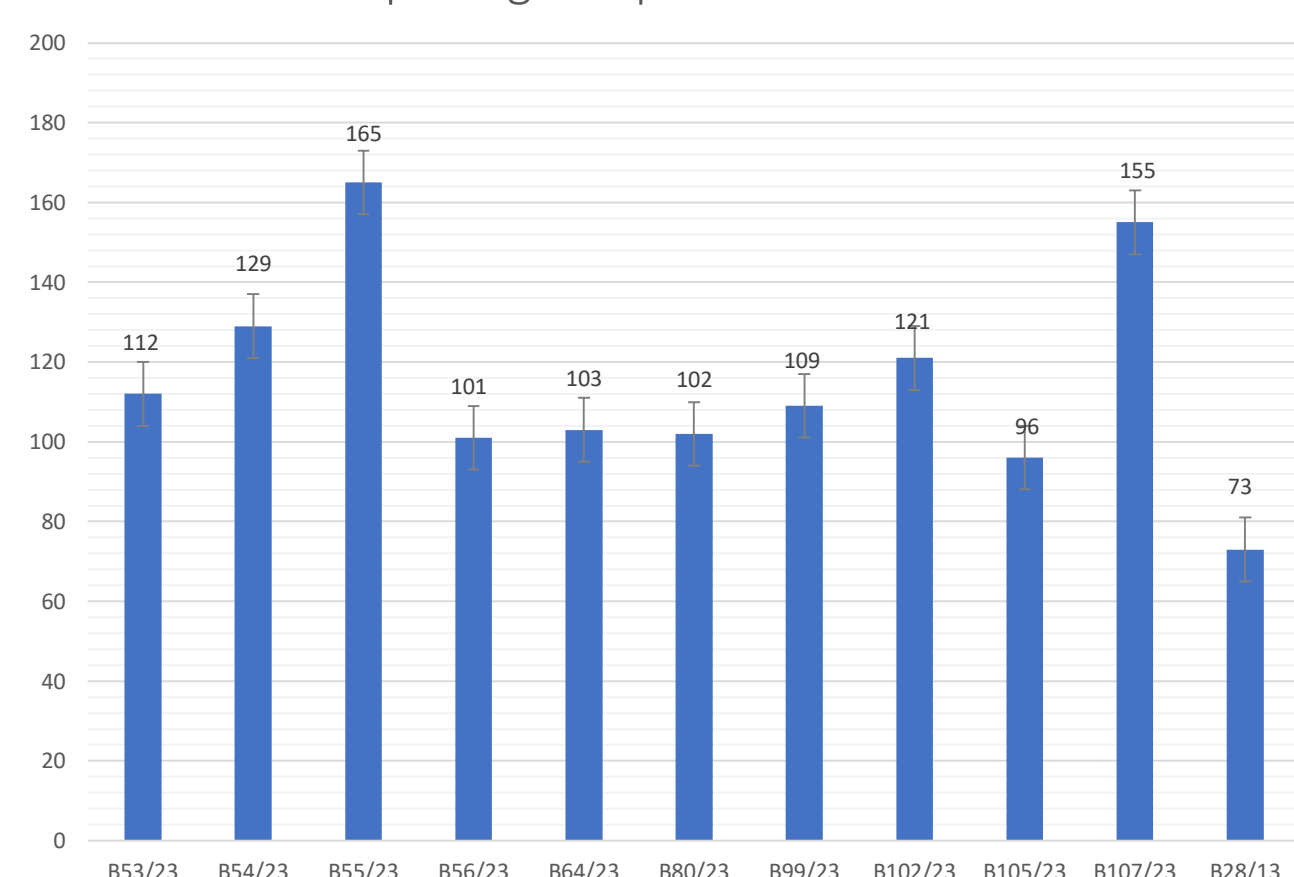


Wyniki

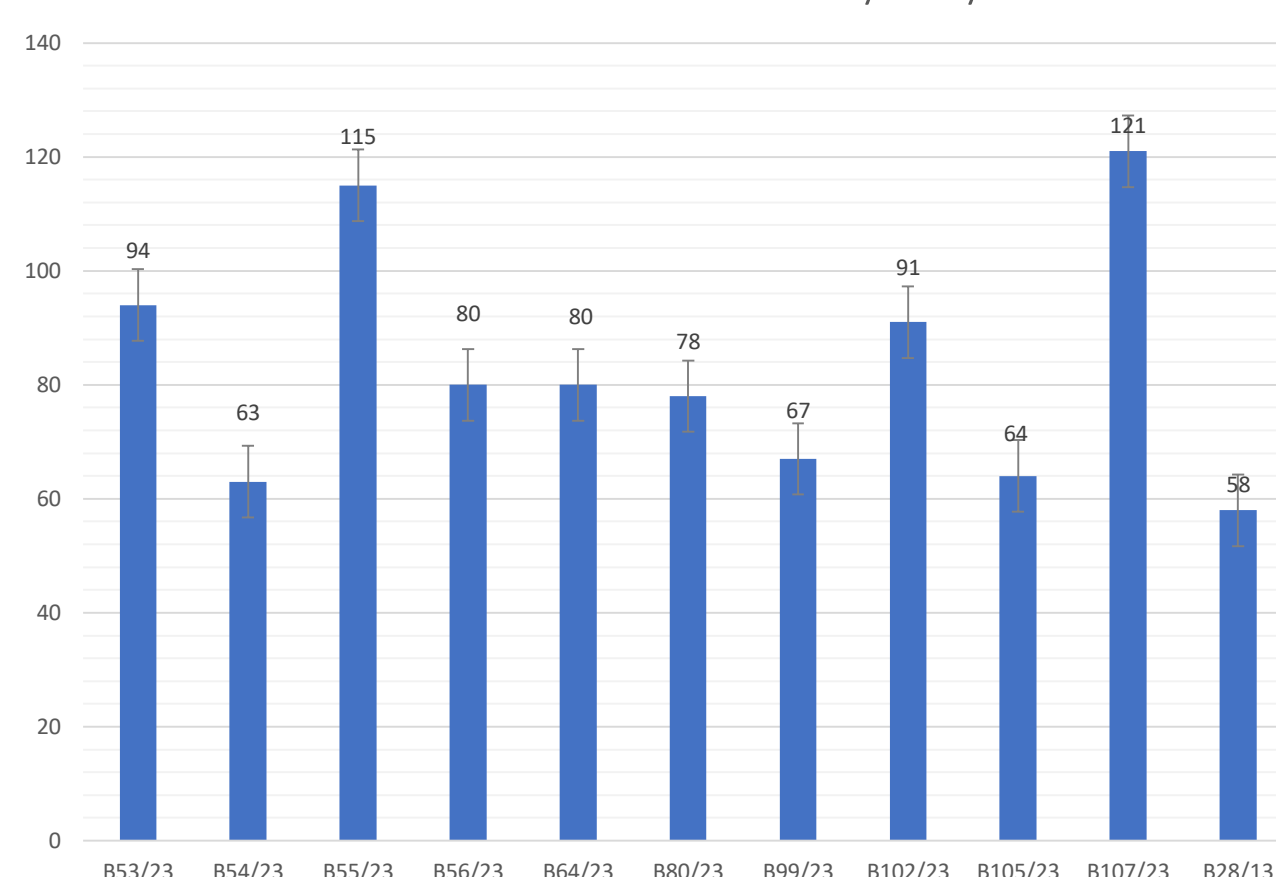
Obecność poszukiwanych genów stwierdzono we wszystkich badanych genomach, pod uwagę brano geny związane z takimi procesami jak produkcja acetonu, 2,3 butandiolu, enzymów litycznych, enzymów antyoksydacyjnych, siarkowodoru, asymilacja siarki, biosynteza i transport sideroforów, produkcja spermidyny, solubilizacja fosforanów, biosynteza IAA, 4-hydroksybenzoesanu, tryptofanu, amoniaku, chemotaksja oraz tworzenie wici i pilusów, czy *quorum sensing*. Obecność największej ilości poszukiwanych genów stwierdzono w genomie szczepu B107/23, który został zidentyfikowany jako *B. megaterium*.



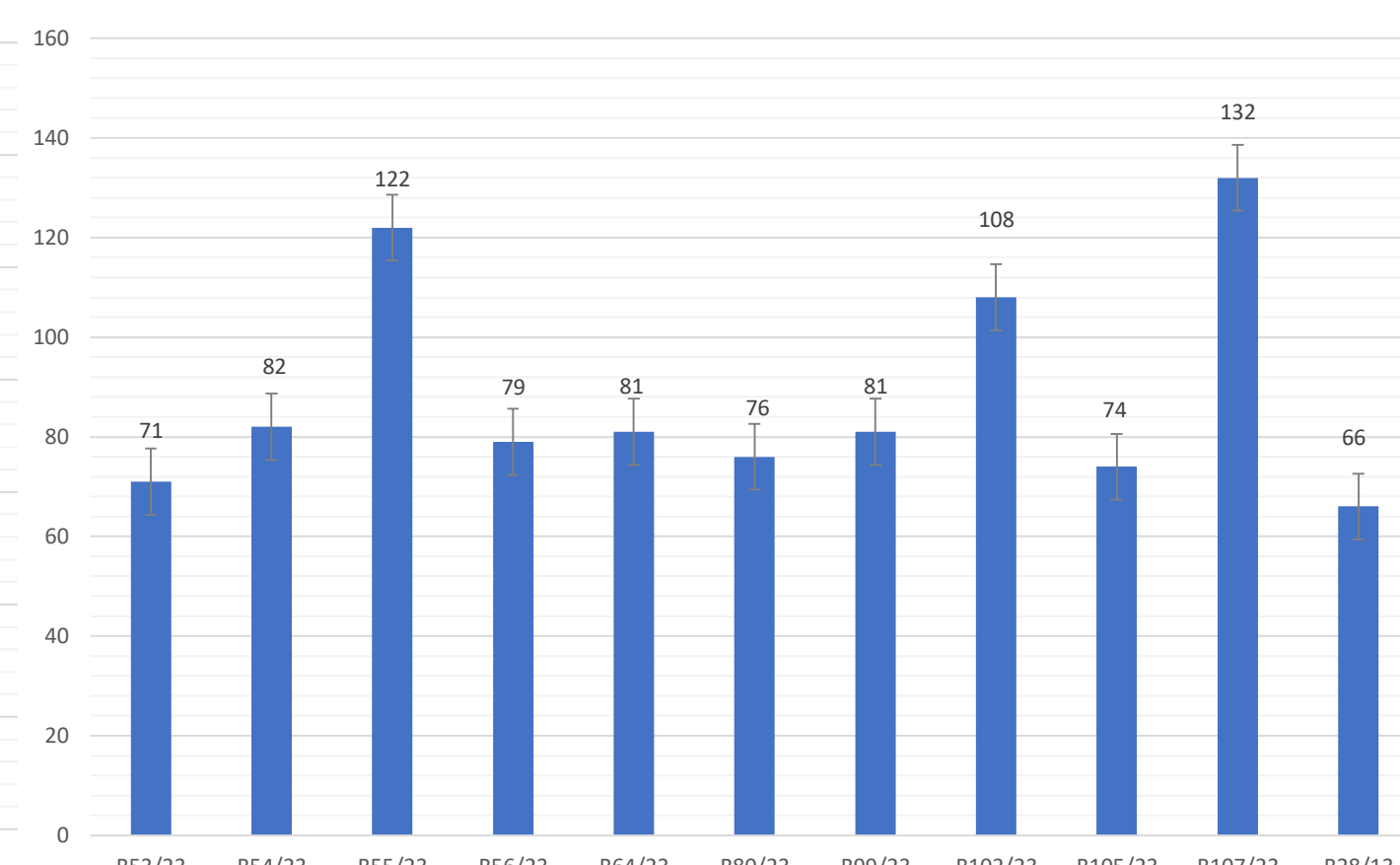
Wspomaganie procesów wzrostu



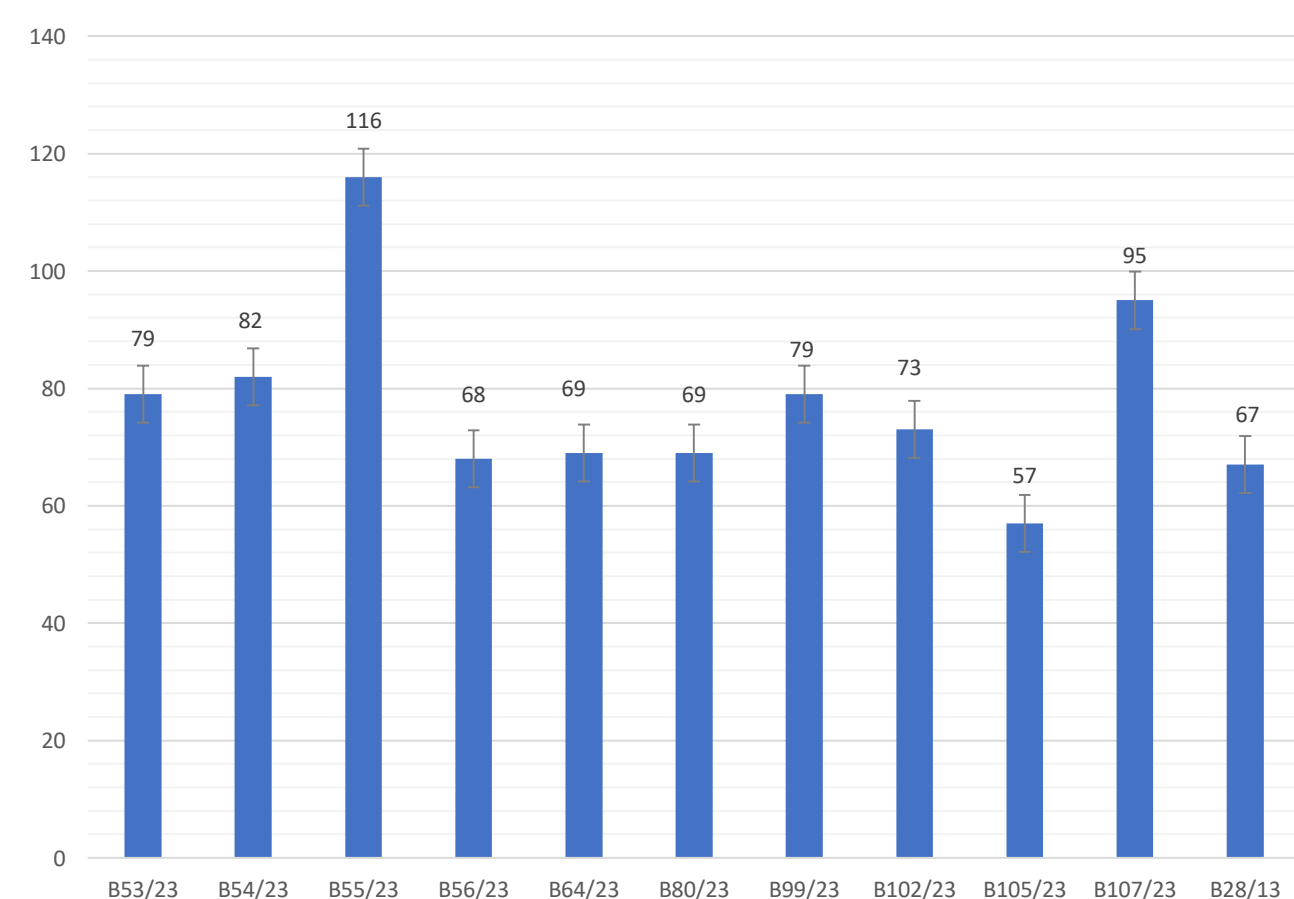
Pobieranie składników odżywczych



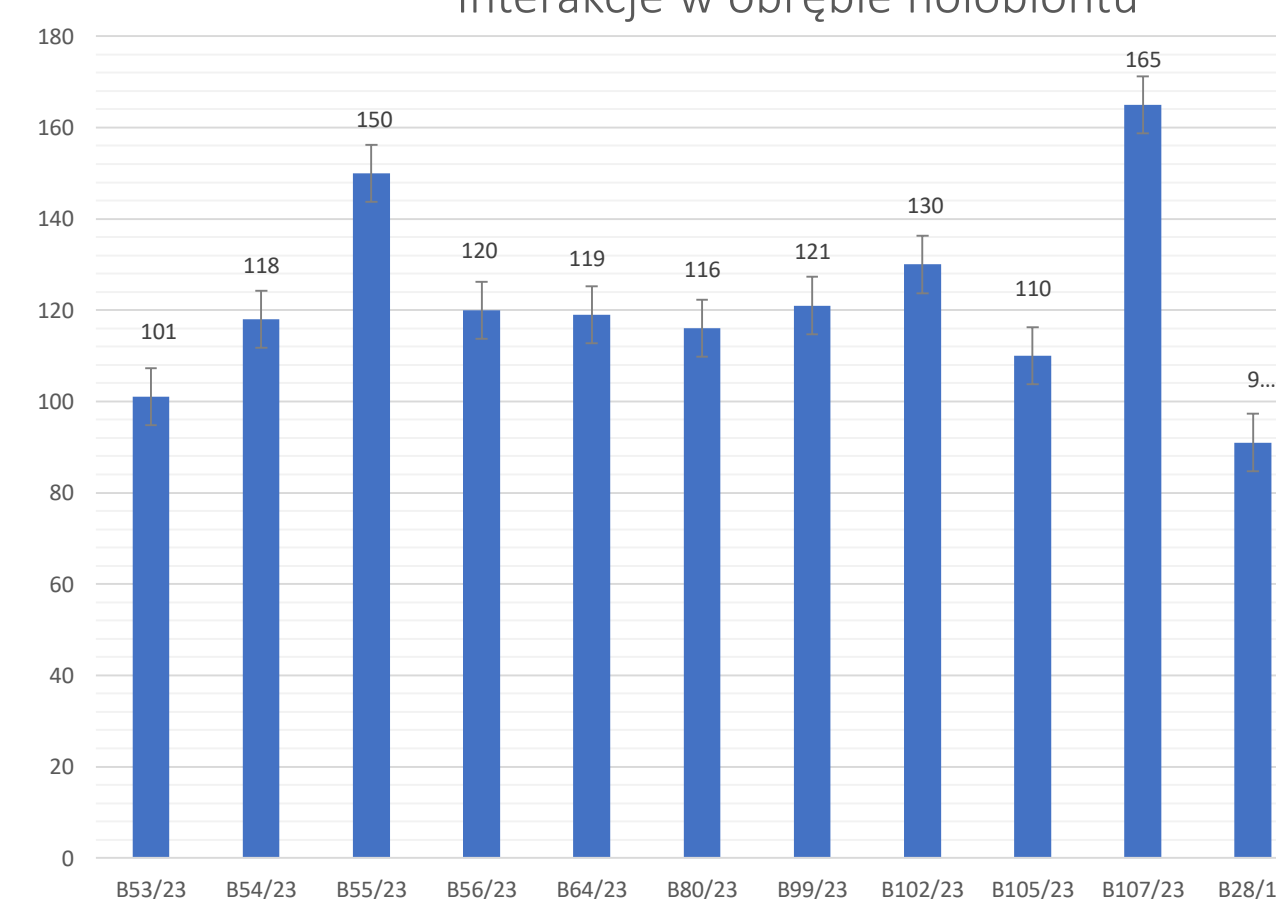
Oporność względem stresów abiotycznych



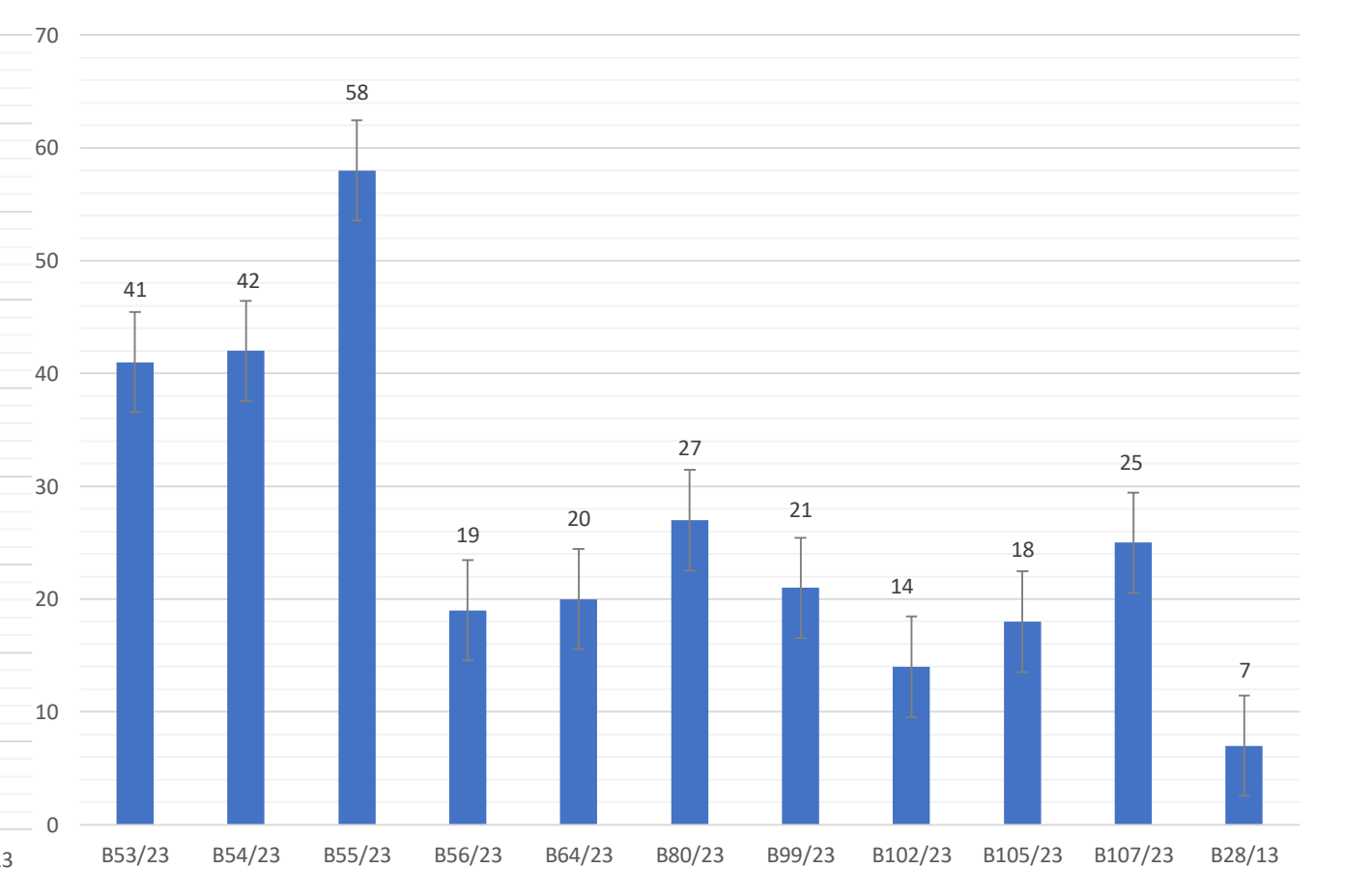
Oporność względem stresów biotycznych



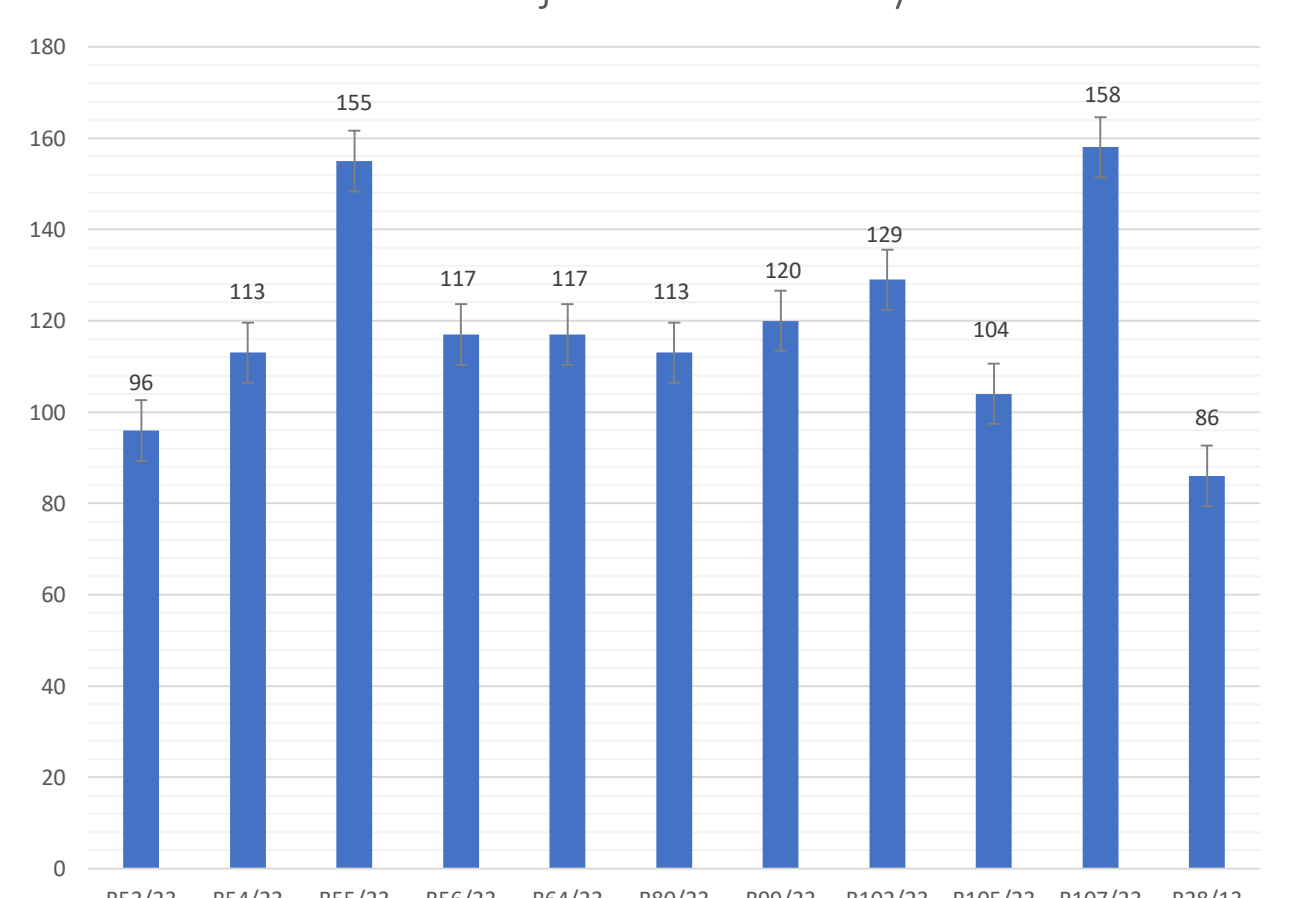
Interakcje w obrębie holobiontu



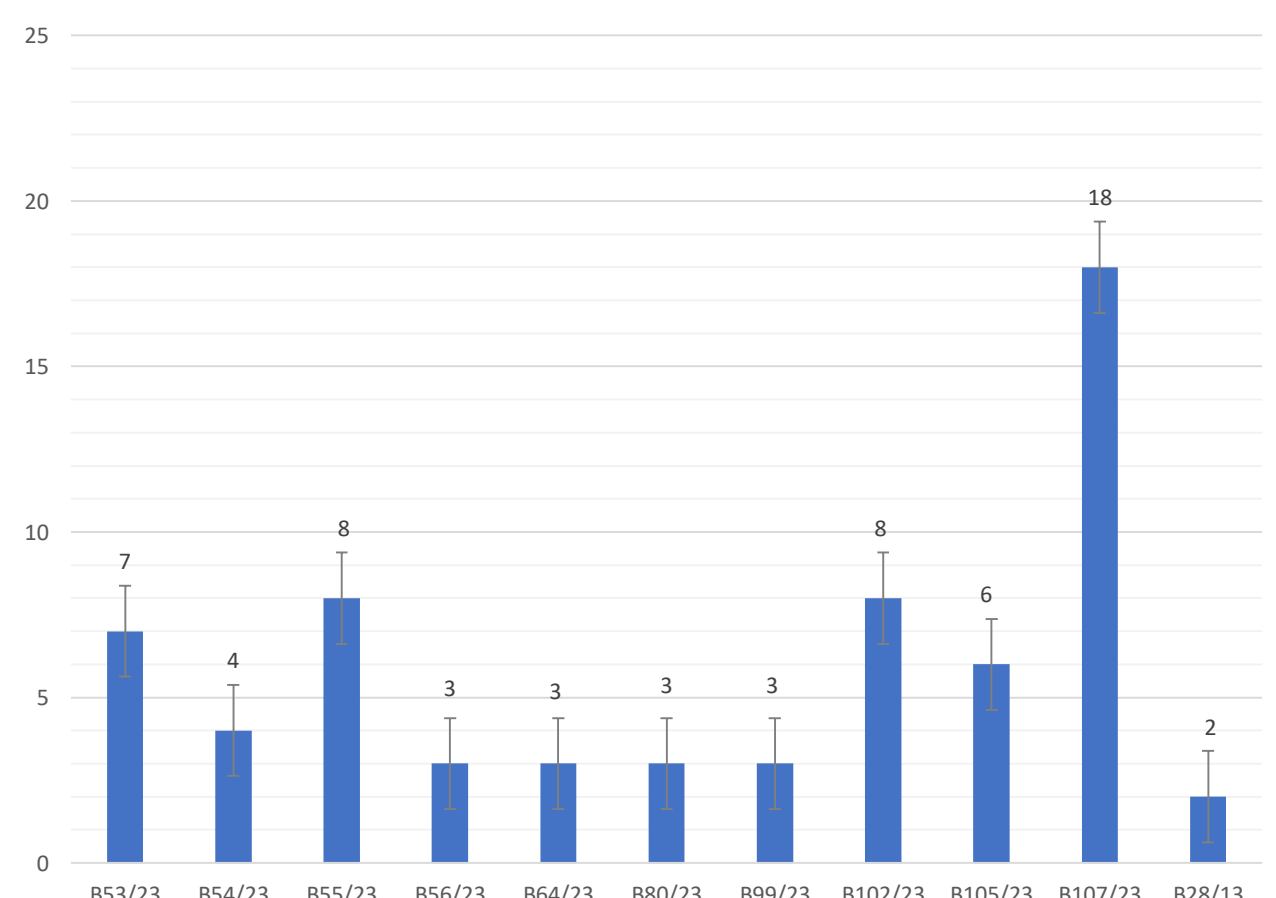
Oporność względem antybiotyków



Kolonizacja tkanek roślinnych



Oporność na pestycydy/herbicydy



Wnioski

Biorąc pod uwagę, że w genomie szczepu B107/23 zidentyfikowano najwięcej genów związanych z pobieraniem składników odżywczych, opornością na stresy abiotyczne, interakcjami w obrębie holobiontu oraz kolonizacją tkanek roślinnych, a także obecność licznych genów związanych z opornością względem stresów biotycznych oraz wspomaganie procesów wzrostu, przy jednocześnie niewielkiej ilości genów zidentyfikowanych jako geny antybiotykoodporności, szczep ten jest znakomitym szczepem inokulacyjnym. Inokulacja *microgreens* ze szczepem B107/23 znacząco przyczyni się do wydłużenia świeżości, jakości oraz oporności względem stresów abiotycznych produktu.