

Anna KILISZCZYK, Michał RYTEL, Stefan RUSSEL\*

## **WPLYW METABOLITÓW WYBRANYCH SZCZEPÓW MYKSOBAKTERII NA WSKAŹNIKI MAKSYMALNEJ WYDAJNOŚCI KWANTOWEJ ŻYCICY TRWAŁEJ**

Myksobakterie należą do organizmów wytwarzających liczne bioaktywne substancje. W przeprowadzonym doświadczeniu zbadano wpływ 10% płynu hodowlanego zawierającego żywe komórki trzech wybranych szczepów myksobakterii (*Myxococcus xanthus*, *Sorangium cellulosum* oraz *Cystobacterineae ferrugineu*) na kiełkowanie oraz wskaźnik maksymalnej wydajności kwantowej fotoukładu II (FV/FM) życicy trwałej. Uprawę roślin prowadzono w warunkach jałowych w fitotronie przy fotoperiodzie 16/8 godzin (dzień/noc) w temperaturze 22 °C w dzień i 12 °C w nocy. Do analizy wydajności Aparatu fotosyntetycznego użyto aparatu FluorCams. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że badane szczepy nie wpływają na liczbę kiełkujących nasion życicy, wykazano natomiast ich stymulujące działanie na wydajność aparatu fotosyntetycznego.

### 1. WSTĘP

Z pośród wszystkich biologicznie aktywnych metabolitów wtórnych około 80% syntetyzowanych jest przez organizmy prokariotyczne, pozostałe 20% powstaje w komórkach organizmów eukariotycznych. Obecnie znanych jest około 10 000 biologicznie aktywnych związków chemicznych pochodzenia mikrobiologicznego. Myksobakterie, gram ujemne bakterie należące do rzędu *Myxococcales*, produkują liczne bioaktywne substancje w tym antybiotyki oraz substancje zapobiegające rozwojowi komórek nowotworowych. Prowadzone są liczne badania nad wytwarzanymi przez myksobakterie zewnątrzkomórkowymi enzymami takimi jak proteazy, celulazy i ksylanazy [9, 10]. Spośród 2150 przebadanych szczepów myksobakterii o właściwościach bakteriolitycznych 55% wykazuje zdolność produkcji substancji bioaktywnych, natomiast z 720 szczepów myksobakterii celulolitycznych 95% syntetyzuje związki biologicznie czynne [2, 7, 8]. Myksobakterie wytwarzają

---

\* Instytut Technologiczno-Przyrodniczy, Zakład Biologii Środowiska i Higienizacji Wsi

związki aktywne biologicznie, należące do różnych klas molekularnych, takich jak polipeptydy, liniowe i cykliczne peptydy czy heterocykliczne związki chemiczne [4, 8].

W toku badań z gleb łąkowych wyizolowano bakterie należące do rzędu *Myxoxoccales*. Do analiz wybrano szczepy: *Myxococcus xanthus*, *Sorangium cellulosum* oraz *Cystobacterineae ferrugineu*.

Celem pracy była ocena wpływu żywych komórek mykobakterii oraz wytwarzanych przez nie metabolitów na wskaźnik maksymalnej wydajności fotoukładu II ( $F_v/F_M$ ) u życicy trwale uprawianej w warunkach hydroponicznych.

Liczne badania wskazują, że parametry fluorescencji chlorofilu są wskaźnikami zmian zachodzących w aparacie fotosyntetycznym pod wpływem czynników stresowych [5, 6].

Dla większości roślin w optymalnych warunkach wzrostu maksymalna wartość  $F_v/F_M$ , określająca potencjalną wydajność PSII wynosi 0,83 [1]. Obniżenie wartości tego parametru świadczy o tym, że badana roślina wcześniej była narażona na działanie czynników stresowych, które uszkodziły funkcje PSII, zmniejszając efektywność transportu elektronów [3].

## 2. METODYKA

W przeprowadzonym doświadczeniu wykorzystano wybrane gatunki myksobakterii, które wyizolowano z gleb łąkowych: *Myxococcus xanthus*, *Sorangium cellulosum* oraz *Cystobacterineae ferrugineus*.

Hodowle bakterii prowadzono przez 12 dni, w temperaturze 30 °C na pożywce płynnej CY o składzie: 0,3% casitone (hydrolizat kazeiny), 0,1% ekstrakt drożdżowy, 0,1%  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , pH 7.0.

Procent skielkowanych nasion oznaczono na szalkach Petriego z wykorzystaniem 2 warstw bibuły Whatman No 1 w temperaturze pokojowej. Nasiona życicy zostały przed kiełkowaniem odkażone w 50% etanolu. Dla każdej kombinacji kiełkowaniu poddano 100 nasion. Kontrolę stanowiły nasiona kiełkujące w wodzie. Wpływ metabolitów wytwarzanych przez myksobakterie badano kiełkując nasiona życicy w 10% wodnych roztworach płynu hodowlanego zawierającego komórki mikroorganizmów. Liczbę kiełkujących nasion liczone po 3, 6 i 9 dniach.

Rośliny uprawiono w warunkach jałowych w fitotronie przy fotoperiodzie 16/8 godzin (dzień/noc) w temperaturze 22 °C/12 °C.

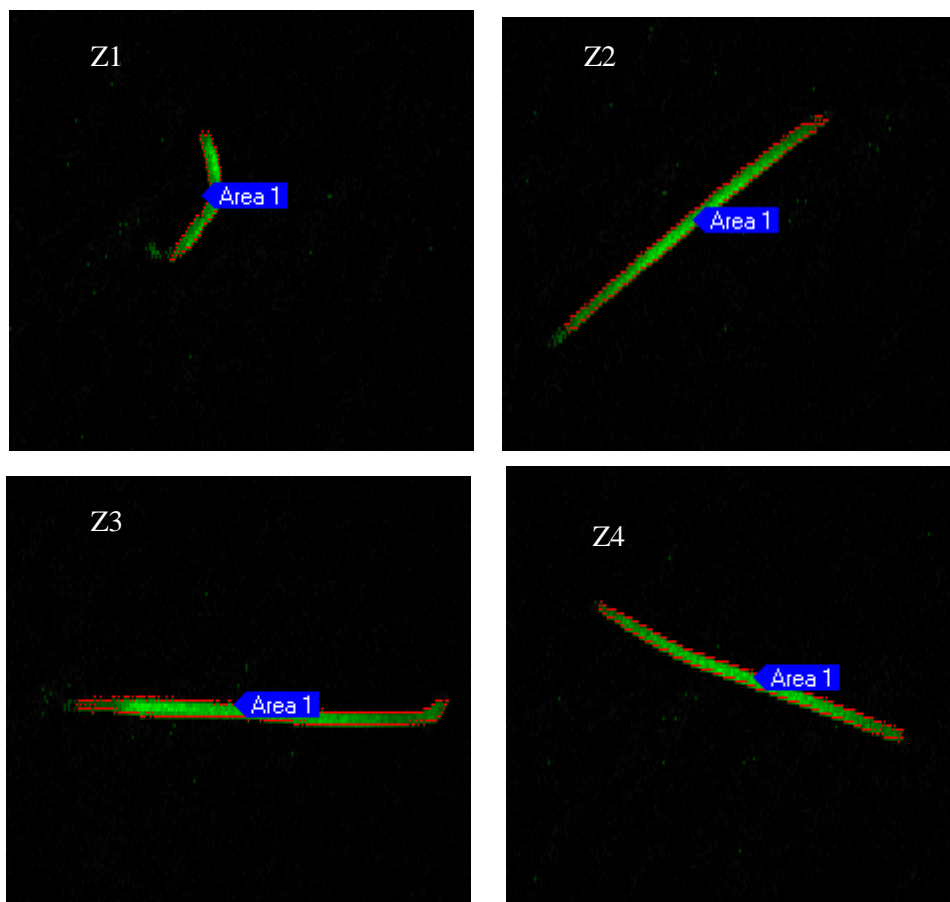
Skład pożywki na której uprawiano rośliny:

woda destylowana	900 cm <sup>3</sup>
płyn hodowlany zawierający bakterie/woda	100cm <sup>3</sup>
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	1,18 g
$\text{KNO}_3$	0,51 g

MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	0,49 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,14 g
roztwór Fe-	2,75 cm <sup>3</sup>
EDTA mikroelementy	1,00 cm <sup>3</sup>

W doświadczeniu zastosowano następujące oznaczenia:

Z0 – kontola (nie zawierająca płynu hodowlanego), Z1 – pożywka z dodatkiem hodowli *Myxococcus xanthus*, Z2 - pożywka z dodatkiem hodowli *Sorangium cellulosum*, Z3 - pożywka z dodatkiem hodowli *Cystobacterineae ferrugineus*. Dla każdej kombinacji wykonano trzy powtórzenia.



Rys. 1. Ilustracja fluorescencji życia trwałej uprawianej w warunkach hydroponicznych po 7 dniach wzrostu. Z0 - bez dodatku komórek i metabolitów bakteryjnych; z komórkami oraz metabolitami wytworzonymi przez Z1 –*Myxococcus xanthus*, Z2 - *Sorangium cellulosum*, Z3 - *Cystobacterineae ferrugineus*

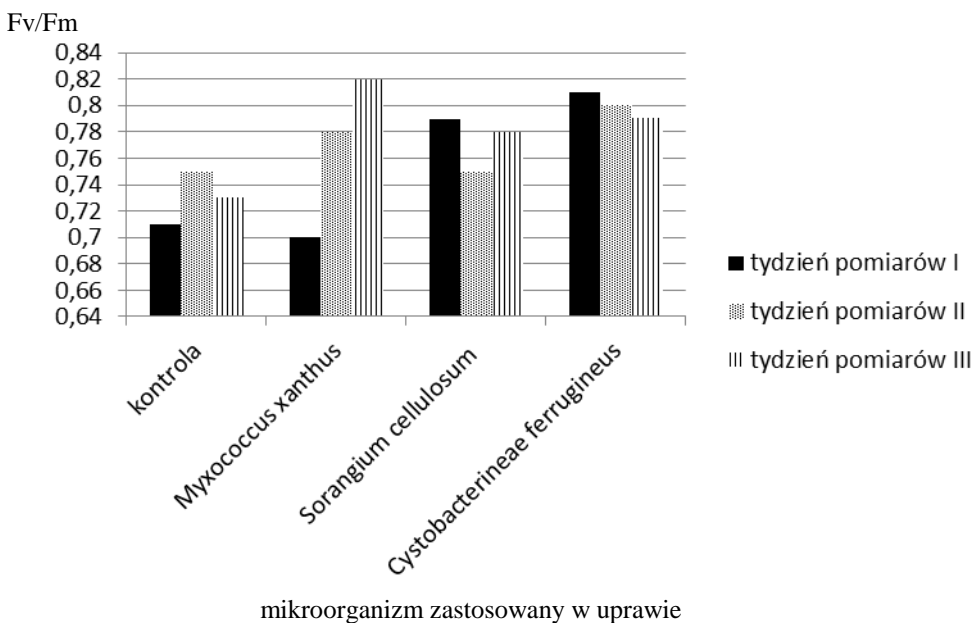
Analizę parametrów fizjologicznych przeprowadzono z wykorzystaniem urządzenia do pomiarów i obrazowania fluorescencji chlorofilu FluorCams (Rys. 1).

### 3. WYNIKI

W tabeli 1 przedstawiono procent kiełkujących nasion życicy trwałej w zależności od zastosowanego dodatku płynu hodowlanego myksobakterii. Liczba kiełkujących nasion w każdym z zastosowanych roztworów była zbliżona i wynosiła 92-93%.

Tabela 1. Kiełkowanie nasion życicy trwałej w zależności od zastosowanego płynu hodowlanego

	kontrola	<i>Myxococcus xanthus</i>	<i>Sorangium cellulosum</i>	<i>Cystobacterineae ferrugineus</i> .
Kiełkowanie nasion [%]	93	95	92	93



Rys. 2. Wydajność kwantowa fotoukładu II (FV/FM) w roślinach życicy trwałej uprawianej hydroponicznie z dodatkiem płynu hodowlanego zawierającego komórki wybranych szczepów myksobakterii

Wartości maksymalnej wydajności kwantowej (FV/FM) wahały się w zakresie od 0,7 do 0,82. Najwyższą wartość badanego parametru odnotowano w trzecim tygodniu badań u życicy uprawianej z dodatkiem płynu hodowlanego zawierającego szczep *Myxococcus xanthus*. Średnie badanego parametru dla poszczególnych kombinacji wynosiły od 0,73 dla kontroli do 0,81 dla szczepu *Cystobacterineae ferrugineus*. Najniższą wartość wydajności kwantowej (0,75) odnotowano średnio w pierwszym natomiast najwyższą (0,78) w trzecim w tygodniu badań.

## WNIOSKI

1. Nie stwierdzono inhibującego działania wydzielanych przez zastosowane szczepy myksobakterii metabolitów na liczbę kiełkujących nasion życicy trwałej.
2. Przeprowadzone badania wykazały stymulujący wpływ wybranych myksobakterii na aktywność aparatu fotosyntetycznego.
3. Myksobakterie należące do gatunku *Myxococcus xanthus* wpływały najkorzystniej na kondycję roślin, czego wskaźnikiem był parametr maksymalnej wydajności kwantowej.
4. Stymulujący wpływ badanych szczepów myksobakterii na aktywność aparatu fotosyntetycznego zwiększał się w kolejnych terminach pomiarowych.
5. Przeprowadzone analizy należy potraktować jako badania rozpoznawcze, które umożliwią zaplanowanie dalszych prac mających na celu ocenę oddziaływania myksobakterii na kiełkowanie i kondycję roślin.

## LITERATURA

- [1] ANGELINI G., RAGNI P., ESPOSITO D., GIARDI P., POMPILI M.L., MOSCARDELLI R., GIARDI M.T. 2001. *A device to study the effect of space radiation on photosynthetic organisms*. Physica Medica - Vol.XVII, Supplement 1, 1 st International Workshop on Space Radiation Research and 11th Annual NASA Space Radiation Health Investigators' Workshop Arona (Italy), May 27-31, 2000.
- [2] GERTH K., PRADELLA S., PERLOVA O., BEYER S., MÜLLER R., 2003, *Myxobacteria: proficient producers of novel natural products with various biological activities—past and future*
- [3] HE J., CHEE C.W., GOH C.J. 1996. *Photoinhibition of Heliconia under natural tropical conditions: the importance of leaf orientation for light interception and leaf temperature*. Plant Cell Environ. 19, 1238-1248.
- [4] HÖFLE G., REICHENBACH H., 1990, *Biologically active substances from microorganisms – an interdisciplinary research project at the GBF*, Sci. Ann. Rep. 16, s. 5-22, Gesellschaft für Biotechnologie, Forschung, Braunschweig.
- [5] KALAJI M. H., ŁOBODA T. 2010. *Fluorescencja chlorofilu w badaniach stanu fizjologicznego roślin*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa

- [6] NAUMANN B., EBERIUS M., APPENROT K. J. 2007. *Growth rate bases dose-response relationships and EC-values of ten heavy metals using the duckweed growth inhibition test (ISO 20079) with Lemna minor L. clone St. J.* Plant Physiol. 164: 1656–1664
- [7] REICHENBACH H., 1993, *Biology of the myxobacteria: Ecology and taxonomy*. W: Myxobacteria II, Red. Dworkin M., Kaiser D., s. 13-62, American Society for Microbiology, Washington, DC
- [8] REICHENBACH H., 2001, *Myxobacteria, producers of novel bioactive substances*, J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 27, s. 149-156
- [9] DAWID W., 2000, *Biology and global distribution of myxobacteria in soils*, FEMS Microbiol. Rev. 24, s. 403-427
- [10] SHIMKETS L. J., DWORKIN M., REICHENBACH H., 2006, *The myxobacteria*. W: The Prokaryotes, 3rd ed., Red. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K. H., Stackebrandt E., vol. 7, s. 31-118, Springer Verlag, Heidelberg

#### THE IMPACT OF SELECTED MYXOBACTERIA STRAINS METABOLITES IN MAXIMUM QUANTUM YIELD OF PS II OF PERENNIAL RYEGRASS

Myxobacteria belong to organisms producing a numerous of bioactive substances. The carry-smoked experiment the effect of 10% culture liquid culture of three selected strains myksobakterii (*Myxococcus xanthus*, *Sorangium cellulosum* and *Cystobacterineae ferrugineu*) on germination and the rate of the maximum quantum yield of photosystem II (FV / FM) of perennial ryegrass. Plants grown under sterile conditions in a growth chamber with a photoperiod of 16/8 Hours (day / night) at 22 °C in the day and 12 °C at night. FluorCams was used to analyze the photosynthetic activity. The conducted experiments showed that the tested strains did not affect the number of germinating seeds of perennial ryegrass, did demonstrate a stimulating effect on the efficiency of the photosynthetic activity.