



Praca naukowa finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Programu LIDER 2011-2014.



Wykorzystanie źródeł fosforu i siarki przez szczep *Trichoderma* wyizolowany z osadu ścieków mleczarskich, przy użyciu mikromacierzy fenotypowych (PM)

Karolina Oszust, Magdalena Frąc,
Agata Gryta, Nina Bilińska

Institute of Agrophysics Polish Academy of Sciences in Lublin,
ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27, Poland
e-mail: m.frac@ipan.lublin.pl



WSTĘP

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* są jednym z głównych źródeł przemysłowej celulazy i hemicelulazy, enzymów wykorzystywanych do hydrolizy złożonych związków do cukrów prostych, które mogą być następnie przekształcone w inne związki chemiczne. Wiadomo, że pewne substancje obecne w podłożu hodowlanym mogą działać jak silne induktory bądź inhibitory aktywności. W związku z tym wykorzystano mikromacierze fenotypowe (PM), w celu wskazania potencjalnych źródeł fosforu i siarki, które mogą odgrywać kluczową rolę w optymalizacji warunków hodowli, optymalizacji sporulacji i kiełkowania lub nawet w optymalizacji produkcji drugorzędowych metabolitów przez grzyby, czy poszukiwaniu nowych substancji czynnych, takich jak np. enzymy.

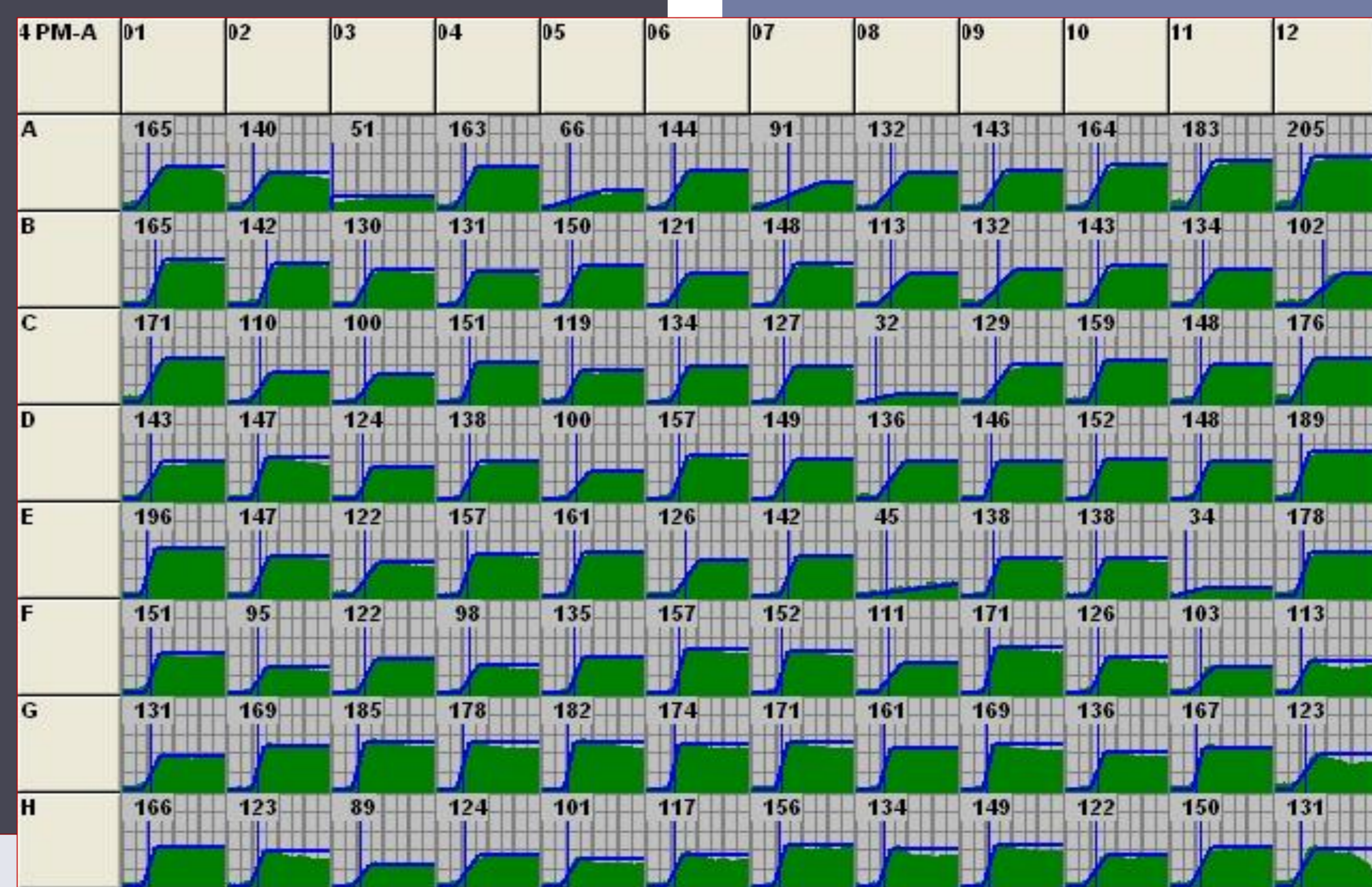
MATERIAŁ I METODY

System mikromacierzy fenotypowych charakteryzuje aktywność fizjologiczną mikroorganizmów. W prezentowanych badaniach wykorzystano płytkę PM4 do pozyskania informacji na temat wykorzystania związków fosforu (59 różnych źródeł) i siarki (35 różnych źródeł) przez szczep *Trichoderma G79/11*.

Szczep *G79/11* wyizolowano z osadu ścieków mleczarskich w Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej, IA PAN. Na podstawie sekwencjonowania fragmentu genu dużej podjednostki rybosomalnej *G79/11* zidentyfikowano jako *Trichoderma atroviride*. Szczep ten hodowano na pożywce z celulozą (CELU) przez 14 dni w temperaturze 27°C. Następnie zgodnie z procedurą PM Biolog dla grzybów nitkowatych przygotowano homogeniczną zawiesinę zarodników (62% T) w sterylnym płynie inokulacyjnym - FF z dodatkiem D-glukozy. Po 100 µl zawiesiny wprowadzono do każdego dołka płytki PM4, a następnie płytkę inkubowano w temperaturze 27°C w systemie OmniLog.

Specimen Analysis										
Specimen	# Samples	Base calling	Filter	Assembly	Specimen Score	Top Match	% Match	Consensus Length	Library Entry Length	Comments
G79_11	2	■	▲	▲	24	<i>Trichoderma atroviride</i> (DAOM=172790)	99.98	230	277	

Specimen: G79_11
N.Join: 0.5%
Trichoderma harzianum (DAOM=196960)
G79_11
Trichoderma atroviride (DAOM=172790)
Trichoderma aureoviride (DAOM=177690)
Trichoderma viride (DAOM=176227)
Trichoderma koningii (DAOM=167073)



WYNIKI

Badania wykazały, że najchętniej wykorzystywane przez *G79/11* źródła fosforu, znajdujące się na PM4 to: 2',3'- monocykliczny fosforan adenozy, w stosunku do którego zanotowano o 12,7% większą aktywność badanego szczepu, w porównaniu do kontroli; fosfoenolopirogronian (wzrost aktywności o 3,6%) i fosfotyrozyna (wzrost aktywności o 15,8%). Z drugiej strony obecność związków, takich jak azotan (V) mocznika, D-seryna, D-glukozamina spowodowała całkowite zahamowanie aktywności *G79/11*. Pozostałe związki fosforu nie wykazały wpływu na aktywność szczepu *G79/11*. Jeśli chodzi o źródła siarki, to żaden związek całkowicie nie zahamował aktywności *G79/11*. Jedynie tiosiarczan, tetrationsan, tiofosforan, tauryna i jej pochodne, D,L-lipoamid, oraz pochodne sulfonu hamowały aktywność szczepu *G79/11* maksymalnie w 50%. Obecność substratów takich jak: pochodne metioniny, glutation, lantionina, czy cystationina spowodowały 35% wzrost aktywności badanego szczepu.