

Title of the doctoral dissertation (PL):

Potencjał *Salicornia europaea* w ograniczaniu kolonizacji roślin przez ludzkie drobnoustroje chorobotwórcze

Doctoral dissertation abstract (PL):

Niniejsza rozprawa doktorska bada złożone interakcje pomiędzy halofitem *Salicornia europaea* L. a trzema głównymi ludzkimi drobnoustrojami chorobotwórczymi (HPMOs, ang. Human Pathogenic Microorganisms): *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* i *Listeria monocytogenes* w doświadczeniach polowych i *in vitro*. *S. europaea* została wykorzystana jako roślina modelowa ze względu na swoje wartości odżywcze i właściwości przeciwdrobnoustrojowe, jako zrównoważona uprawa do rolnictwa na glebach zasolonych z możliwością spożycia na surowo. W związku ze wzrastającą liczbą chorób przenoszonych przez żywność, związanych z warzywami spożywanymi na surowo i skażonymi HPMOs, istnieje pilna potrzeba innowacyjnych i zrównoważonych strategii przeciwdrobnoustrojowych w rolnictwie i bezpieczeństwie żywności. Dlatego przeanalizowano związki pomiędzy składem chemicznym pędów roślin (np. zawartością ligniny i lipidów) oraz właściwościami gleby (np. zasoleniem i pH) a kolonizacją przez HPMOs. Trwałość HPMOs w *S. europaea* badano za pomocą transkryptomiki roślin. Ponadto analizowano bakterie endofityczne i ryzosferowe pod kątem ich zdolności do syntezy lotnych związków organicznych (mVOC) o potencjale hamującym HPMOs.

Postawiono następujące hipotezy: (i) parametry chemiczne roślin i gleb kontrolują liczebność HPMOs i mogą służyć jako wskaźniki ryzyka dla bezpieczeństwa żywności; (ii) trwałość HPMOs w *S. europaea* może być ograniczana przez natywny mikrobiom rośliny i jej wewnętrzne zasolenie; (iii) hamowanie HPMOs może wynikać z produkcji mVOC przez bakterie endofityczne i ryzosferowe.

Aby zweryfikować te hipotezy, zastosowano trzy różne podejścia eksperymentalne:

1. doświadczenie polowe: skład chemiczny pędów *S. europaea* oraz gleb z dwóch lokalizacji we Francji analizowano za pomocą GC-MS wraz z liczebnością HPMOs w celu identyfikacji potencjalnych biomarkerów skażenia HPMOs;
2. doświadczenie *in vitro*: oceniano interakcje między *S. europaea* a HPMOs przy różnych poziomach zasolenia (0, 50, 100 i 200 mM NaCl), koncentrując się na wzroście roślin, liczebności HPMOs przy użyciu podłoży selektywnych i qPCR próbek pędów i korzeni oraz transkryptomice roślin w odpowiedzi na kolonizację przez HPMOs;
3. test funkcjonalny w celu identyfikacji antagonistów: bakterie endofityczne i ryzosferowe izolowane z *S. europaea* testowano pod kątem ich właściwości hamujących wobec HPMOs z wykorzystaniem interakcji wywołanych przez mVOC oraz identyfikacji lotnych związków przy wykorzystaniu dwuetapowego testu *in vitro* połączonego z techniką HS-SPME-GC-MS.

Stwierdzono ujemne korelacje pomiędzy zawartością ligniny w pędach a liczebnością *S. enterica*, jak również pomiędzy zawartością ligniny w glebowej materii organicznej a liczebnością *E. coli*, co sugeruje potencjalną ochronną rolę ligniny. Natomiast zawartość lipidów w pędach była dodatnio skorelowana z liczebnością *E. coli*. Odczyn pH gleby i jej zasolenie były ujemnie skorelowane z liczebnością HPMOs w glebie. Wskazuje to na przewagę *S. europaea* rosnącej na glebach zasolonych z punktu widzenia bezpieczeństwa żywności. W doświadczeniu *in vitro* wykazano wyraźny spadek liczebności HPMOs w tkankach roślin, pomimo początkowo wysokiej liczebności bakterii w jałowym piasku, co sugeruje naturalne ograniczenie od gleby do rośliny. *E. coli* nie wykryto w tkankach roślin, natomiast *S. enterica* i *L. monocytogenes* przetrwały i wywoływały istotne zmiany w analizach transkryptomicznych, szczególnie przy określonym zasoleniu (0 i 100 mM NaCl). Analiza transkryptomiczna wykazała brak istotnych zmian w ekspresji genów w odpowiedzi na obecność *E.*

coli, ale zauważalne zmiany w odpowiedzi na pozostałe HPMOs (*S. enterica* i *L. monocytogenes*), obejmujące geny związane z reakcjami stresowymi, biosyntezą wtórnych metabolitów oraz odpowiedziami komórkowymi na bodźce zewnętrzne, np. biosyntezą fosfoetanolaminy N-metylotransferazy i pentacyklicznych triterpenoidów. Zaobserwowano różne wzorce hamowania wśród taksonów bakteryjnych. Bacilli, Actinomycetes i Gammaproteobacteria głównie hamowały wzrost *L. monocytogenes* i *E. coli*. Kluczowe szczepy zidentyfikowane do profilowania mVOC obejmowały *Bacillus pumilus* CSR28, *Xanthomonadales* sp. CSE34, *Streptomyces champavatii* CSR4 oraz *Bacillus pseudomycooides* CSE4, przy czym dimetylodisulfid (DMDS) został wyróżniony jako główny i potencjalny przeciwdrobnoustrojowy mVOC. Inne wykryte mVOC, takie jak cykloheksan i metylocyklopentan, różniły się w zależności od współkultur bakterii i patogenów, w tym także w monokulturach HPMOs.

Podsumowując, niniejsza rozprawa doktorska podkreśla dużą różnorodność interakcji pomiędzy *S. europaea* a HPMOs, ujawniając, że tylko niektóre z tych mikroorganizmów są zdolne do przetrwania w tkankach roślin. Odczyn pH gleby i zasolenie wyłaniają się jako kluczowe czynniki kontrolne i wskaźniki ryzyka skażenia *S. europaea* przez HPMOs i mogą być wykorzystane w celu zwiększenia bezpieczeństwa konsumpcji. Ponadto HPMOs wywołują istotne zmiany w ekspresji genów rośliny, co sugeruje, że roślina aktywnie reaguje na niektóre z tych drobnoustrojów. Co więcej, wykazano, że określone bakterie endofityczne i ryzosferowe związane z *S. europaea* wytwarzają mVOC zdolne do hamowania głównych patogenów przenoszonych przez żywność, co czyni je potencjalnymi kandydatami do biokontroli HPMOs w celu zwiększenia bezpieczeństwa żywności w rolnictwie.

.....

Signature of the PhD student