

Gabriela Bugla-Płoskońska

Bioróżnorodność w bakteriologii jako złożony problem biologiczny

Aby przeanalizować złożone zjawisko jakim jest bioróżnorodność z perspektywy komórek bakteryjnych, niewątpliwie należy spojrzeć w przeszłość, kiedy to w połowie XVII wieku Antoni van Leeuwenhoek (1632–1723) jako pierwszy badacz, używając mikroskopu – lupy opisał drobne organizmy jednokomórkowe, nazwane później bakteriami. W 1674 roku w korespondencji z Royal Society (Towarzystwem Królewskim) opisał bakterie, które ujrzał, badając płytkę nazębną. Jako jeden z pierwszych naukowców zwrócił uwagę na ogromną różnorodność organizmów, które żwawo i szybko pływały w ślinie. Biorąc pod uwagę obiekt badany, niewątpliwie był pierwszym badaczem, który opisał bioróżnorodność w obrębie biofilmu płytki nazębnej (Straus i Straus 2009). To spojrzenie historyczne na zagadnienie bioróżnorodności istniejącej w świecie bakterii ma głęboki sens naukowy, w kontekście współczesnej ekologicznej i molekularnej analizy mikrobiologicznej bioróżnorodności. Na początku rozwoju mikrobiologii świat jednokomórkowych bakterii wydawał się uczonym fascynujący, lecz mało skomplikowany i przewidywalny w swojej prostocie. Bakterie postrzegane były jako pojedyncze, izolowane komórki istniejące w przyrodzie. Dynamiczny rozwój nowych technik badawczych, w tym biologii molekularnej, sprawił, iż z każdym rokiem od odkrycia A. van Leeuwenhoek'a ta wspomniana prostota wydaje się być coraz bardziej skomplikowana. Mikrobiolodzy opisujący mikroorganizmy nie mogą już bazować tylko na cechach fizycznych komórek, tak jak to robią botanicy i zoologowie opisujący swoje obiekty biologiczne, dlatego też badania różnorodności w świecie mikroorganizmów opierają się obecnie na technikach molekularnych i na molekularnym stopniu bakteryjnego pokrewieństwa.

W latach 80. XX wieku Carl Woese (ur. 1928), udowadniając użyteczność 16S rRNA do badań stopnia pokrewieństwa między bakteriami, trafił w samo sedno. Dzięki jego odkryciu badania nad bioróżnorodnością mikroorganizmów nabrały niezwykłego tempa. Oczom naukowców ukazał się zaskakujący obraz trzech grup organizmów, obecnie nazywanych domenami, tj. *Eucarya*, *Bacteria* i *Archea*. Obecnie wiadomo, iż *Bacteria* oraz *Archea*, należące do organizmów prokariotycznych, różnią się znacząco w budowie osłon komórkowych, budowie aparatu translacyjnego czy organizacji materiału genetycznego (Salyers i Whitt 2003). Niestety, sama analiza 16S rRNA nie pozwala nam na dokładniejsze przyjrzenie się zjawisku różnorodności wśród bakterii, gdyż nie mówi nam nic o ich aktywności metabolicznej.

Dlatego też ważnym narzędziem badawczym we współczesnej biologii molekularnej stało się sekwencjonowanie genomów mikroorganizmów. Porównywanie sekwencji genomów, znajdowanie różnic w tym obszarze pomiędzy mikroorganizmami, może być wytłumaczeniem, dlaczego jedne bakterie są zdolne do życia w tak ekstremalnych warunkach środowiska jak okolice kominów hydrotermalnych czy wieczna zmarzlina lodowców, ale także dlaczego jedne bakterie wykazują cechy zwiększonej zjadliwości, a inne nie (Błaszczuk 2008).

Niewątpliwym wpływem na rozwój bioróżnorodności w świecie bakterii ma zjawisko istniejącej wymiany genów bakteryjnych w przyrodzie, które może być wynikiem horyzontalnego transferu genów zachodzącego na drodze koniugacji, transdukcji czy transformacji (Małek i wsp. 2008). Interesujące są obserwacje, iż bakterie o większych genomach, np. z rodzaju *Burkholderia* czy gatunków *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, metabolicznie bardziej wszechstronne, eksplorują większą liczbę ekosystemów, a tym samym wykazują większe zróżnicowanie i większą różnorodność form niż bakterie o małych genomach, jak np. bakterie z rodzaju *Streptococcus* czy *Mycoplasma* (Brown 2009, Małek i wsp. 2008). Wymiany genów między organizmami prokariotycznymi należącymi do jednego gatunku, ale także pomiędzy różnymi gatunkami bakterii żyjącymi w tym samym środowisku, są dość powszechne w przyrodzie i wydają się być swoistym pomysłem bakterii na przeżycie w określonej niszy ekologicznej (Ochman i wsp. 2000, Brown 2009).

Interesującym zagadnieniem z punktu widzenia bioróżnorodności mikrobiologicznej jest wytwarzanie przez bakterie skomplikowanych struktur morfologicznych, jakimi są biofilmy bakteryjne, a także specjalizacja komórek bakterii w obrębie tych struktur. Terminem „biofilm bakteryjny” określa się mikrokolonie bakterii osiadłe na podłożu zestalonym, zanurzone w mieszaninie wytwarzanych przez siebie egzopolisacharydów (Cortizo i Lorenzo 2007). Biofilmy bakteryjne, które mogą być jedno- lub wielogatunkowe, występują zarówno w środowisku wodnym (wody słodkie i wody morskie), na powierzchni skał, kory drzew, jak i na powierzchni tkanek organizmów wyższych. Biofilmy w organizmach wyższych możemy rozpatrywać w kontekście biofilmów fizjologicznych, korzystnych dla zdrowia zasiedlanych organizmów, takich jak biofilm pochwy czy biofilm jelit, ale także jako biofilm zagrażający zdrowiu, nawet życiu, np. biofilm rozwijający się w obrębie rany poparzeniowej, biofilm odpowiedzialny za wysiękowe zapalenie ucha środkowego, zapalenie płuc, czy biofilm zarastający cewnik lub dren umieszczony w ciele pacjenta. Mikroorganizmy, które najczęściej tworzą biofilmy na powierzchni cewników, tworzą tzw. biofilm mieszany, wielogatunkowy, w skład którego wchodzi różnorodne organizmy, m.in. *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* czy *Enterococcus* (Niedzielski i wsp. 2006, Maldonado i wsp. 2007).

Jedną z wymienianych w literaturze charakterystycznych cech komórek bakterii wchodzących w skład biofilmu jest ich niska aktywność metaboliczna, niemniej w świetle najnowszych badań (Trafny 2009) z wykorzystaniem nowoczesnych technik obrazowania, a także badań proteomicznych okazuje się, iż komórki bakterii tworzące biofilmy są bardzo aktywne metabolicznie, co więcej, proteomy szczepów rosnących w postaci pojedynczych kolonii znacząco różnią się od proteomów szczepów tego samego gatunku, wzrastających w postaci biofilmów. Proteomy bakterii tworzących biofilmy są często „bogatsze” o nowe białka, nie występujące u form

wzrastających w postaci pojedynczych kolonii czy komórek wolnopływających (Mikkelsen i wsp. 2007). Stan niskiej aktywności metabolicznej w obrębie komórek biofilmu może dotyczyć komórek znajdujących się wewnątrz tej struktury, tzw. komórek „persisters”, które po zaprzestaniu działania np. środków bakteriobójczych są w stanie odbudować biofilm od nowa (Różalska i Sadowska 2012). Bakterie tworzące struktury biofilmu różnią się od komórek wolnopływających bakterii również ekspresją niektórych genów kodujących czynniki wirulencji lub kodujących enzymy, np. chitynazę (ang. *chitin-binding genes*). Ekspresja genu kodującego ten enzym obserwowana jest u bakterii z rodzaju *Vibrio* tylko o obecności chityny, podczas formowania biofilmu, a nie jest obserwowana u form swobodnie pływających w toni wodnej (Watnick i Kolter 2000).

Koordynacja ekspresji wielu genów bakterii w obrębie biofilmu, w tym genów odpowiedzialnych za zjadliwość bakterii, jest związana z wytwarzaniem przez bakterie chemicznych cząsteczek informacyjnych, a zjawisko to określane jest mianem *quorum sensing* (QS) (Miller i Bassler 2001). Dzięki takiej zmiennej ekspresji genów w komórkach bakterii tego samego gatunku, w obrębie jednej struktury biofilmu możliwa jest swoista specjalizacja bakteryjnych komórek, będąca źródłem ich wzajemnej różnorodności, co jest zjawiskiem bardzo fascynującym (Stańkowska i Kaca 2005).

Bioróżnorodność mikroorganizmów tworzących biofilmy bakteryjne pozwala także spojrzeć na nowo na etiologię wielu chorób, w tym np. na choroby przyzębia i przewlekłe choroby zapalne jamy ustnej. Dotychczas opisano około 500 różnych gatunków bakterii bytujących w jamie ustnej! Ich bioróżnorodność w obrębie jamy ustnej jest przeogromna. Odnajdziemy tutaj paciorkowce z gatunku *Streptococcus mutans* czy *S. sorbinus*, ale także bakterie z rodzaju *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Neisseria*, *Clostridium* czy *Rothia*. Obecnie uważa się, iż choroby przyzębia i przewlekłe choroby zapalne jamy ustnej są wynikiem zachwiania równowagi pomiędzy mikroflorą bytującą w jamie ustnej a organizmem gospodarza. Z materiału pobranego od pacjentów z zapaleniem dziąseł izolowano bakterie z gatunku *Porphyromonas gingivalis*, *P. intermedia* czy *Fusobacterium nucleatum*, natomiast u chorych z przewlekłym stanem zapalnym przyzębia dodatkowo poza wyżej wymienionymi taksonami występowały bakterie z gatunku *Treponema forsythensis* i *Actinomyces actinomycetemcomitans* (Strużycka 2009). Interesujący jest fakt, iż wstępna kolonizacja jamy ustnej, jako wynik aktywności metabolicznej bakterii *S. gordonii*, *S. oralis* czy *A. naeslundii*, to rezultat interakcji między bakteriami różnych gatunków, a nie efekt klonalnego wzrostu identycznych genetycznie mikroorganizmów. Bioróżnorodność mikroorganizmów w obrębie jamy ustnej jest ścisła i bardzo precyzyjnie skorelowana na poziomie metabolicznym, czego dobrym przykładem jest współzależność występowania *Treponema denticola* z *Porphyromonas gingivalis*.

Komórki bakterii wchodzących w skład biofilmów różnią się znacznie od komórek bakterii tego samego gatunku, żyjących w postaci planktonicznej. Różnice te dotyczą innego poziomu ekspresji genów czy nasilonej produkcji egzopolisacharydów u bakterii tworzących biofilm, co ma przystosować ich komórki do osiadłego trybu życia. Dodatkowo bliskość komórek bakterii w strukturach biofilmu pozwala im na swobodną wymianę materiału genetycznego, w tym plazmidów niosących

geny oporności na antybiotyki. To również ma znaczący wpływ na generowanie interesującej różnorodności wśród komórek bakterii tworzących biofilm (Strużycka 2009).

Kolejnym zagadnieniem, które należy omówić w kontekście zjawiska bioróżnorodności mikrobiologicznej, jest bioróżnorodność w budowie osłon komórkowych bakterii. Współcześnie prowadzone światowe badania wskazują na bogatą różnorodność w budowie struktur powierzchniowych bakterii nie tylko między mikroorganizmami należącymi do bakterii Gram-ujemnych czy Gram-dodatnich, ale – co jest niezwykle interesujące – w obrębie gatunków bakterii, a nawet w obrębie podgatunków. W badaniach własnych (Bugła-Płoskońska i wsp. 2010a, 2010b; 2009; 2008; Bugła-Płoskońska i Doroszkiewicz; Futoma i wsp. 2005), prowadzonych od kilku lat w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego, zajmujemy się badaniami nad pałeczkami *Salmonella*, należącymi do grupy serologicznej O48 (Grupa O:48 (Y)), w kontekście stopnia ich wrażliwości na bakteriobójcze działanie surowicy. Do badanych bakterii należą: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, oraz *S. bongori*. Fakt posiadania takiego samego antygeny somatycznego O48 wskazywałby na to, iż bakterie te powinny wykazywać podobny poziom wrażliwości na lityczne działanie białek dopełniacza obecnego w surowicy, gdyż w opinii badaczy zajmujących się tym zagadnieniem (Taylor 1983, Tomas i wsp. 1988) to właśnie O-swoiste łańcuchy lipopolisacharydu (LPS) pełnią najważniejszą rolę w ochronie bakterii Gram-ujemnych przed działaniem układu białek dopełniacza zawartych w surowicy krwi. Szczepy typu gładkiego (formy S), tj. posiadające kompletny LPS zbudowany z trzech części (lipid A, oligosacharydowy rdzeń, część O-swoista), wykazują często niewielką wrażliwość na bakteriobójcze działanie surowicy, co tłumaczy się łatwym usuwaniem z powierzchni ich komórek kompleksu MAC (ang. *membrane attack complex*, MAC), zanim wejdzie on w trwałe hydrofobowe połączenia z lipidem A. Trwałe zdeponowanie kompleksu białek dopełniacza w formie struktury MAC zapoczątkowuje proces lizy komórki bakterii. W badaniach własnych i zespołu (Bugła-Płoskońska i wsp. 2010a, 2010b, 2009, 2008; Bugła-Płoskońska i Doroszkiewicz 2006, Futoma i wsp., 2005) wykazaliśmy jednak, iż wiele gładkich szczepów bakterii Gram-ujemnych, pomimo posiadania kompletnych łańcuchów O-swoistych, jest jednak wrażliwych na bakteriobójcze działanie dopełniacza, dodatkowo, co bardzo interesujące, wykazaliśmy różnice w poziomie wrażliwości na surowicę krwi w obrębie testowanej grupy serologicznej *Salmonella* O48. Otrzymane wyniki sugerowałyby udział innych struktur powierzchniowych w tym procesie, np. białek błony zewnętrznej bakterii (ang. *outer membrane protein*, OMP). W kolejnym etapie badań wykazaliśmy (Bugła-Płoskońska i wsp. 2011) istnienie ogromnej różnorodności w zakresie posiadanych OMP przez pałeczki *Salmonella* O48 należące do omawianej, jednej grupy serologicznej.

Badania nad pałeczkami *Salmonella* O48 dostarczyły także innych ciekawych odkryć. Grupa serologiczna *Salmonella* O48 charakteryzuje się obecnością w strukturze LPS kwasu sjałowego (NeuAc), monocukru, o dziewięciu atomach węgla, którego obecność w strukturach powierzchniowych bakterii jest skorelowana ze zjawiskiem mimikry molekularnej, gdyż NeuAc, nie będąc powszechnym składnikiem struktur powierzchniowych bakterii, występuje powszechnie w organizmach

wyższych, wchodząc w skład glikoprotein błonowych (Vimir i wsp. 2001). W badaniach własnych i zespołu (Bugla-Płoskońska i wsp. 2010b) wykazaliśmy, iż w obrębie *Salmonella* O48 występuje bardzo duża zmienność dotycząca ilości NeuAc w LPS pomiędzy serowarami.

Otrzymane przez nas wyniki rzucają nowe światło na postrzeganie umownej jednolitości, jaką daje przynależność bakterii do tej samej grupy serologicznej. Uzyskane przez nas wyniki zmuszają także do zaakceptowania występowania ogromnej różnorodności w zakresie budowy struktur powierzchniowych bakterii Gram-ujemnych należących do tego samego gatunku, a nawet podgatunku. Przytoczone wyniki badań własnych każą przypuszczać, iż opisane zjawisko nie jest odosobnione w świecie bakterii, gdyż takowych obserwacji dotyczących różnorodności w obrębie gatunku bakterii, w zakresie posiadanych OMP, dokonano także na szczepach *Shigella flexnerii* (Bugla i wsp. 2003) i *Helicobacter pylori* (dane niepublikowane).

Warto też zwrócić uwagę, iż tak bogata bioróżnorodność dotycząca mikroorganizmów nastreśla wiele poważnych problemów z definiowaniem pojęcia gatunku bakteryjnego. Pomimo szybkiego postępu w technikach molekularnych, prowadzących do zdefiniowania gatunku bakteryjnego, wyznaczenie to w mikrobiologii jest nadal niedoskonałe i bardzo trudne. Powszechnie przyjmuje się, że gatunek bakteryjny to: „szcypy charakteryzujące się odpowiednio wysokim stopniem podobieństwa fenotypowego, przynajmniej jedną diagnostyczną cechą fenotypową, 50–70% lub wyższym stopniem hybrydyzacji DNA i ponad 97% stopniem identyczności sekwencji 16S rDNA” (Małek i wsp. 2008). Obecnie znanych jest ponad 5000 gatunków bakterii. Czy jest to liczba duża? Wydaje się, że nie, biorąc pod uwagę czas istnienia tych najstarszych organizmów na Ziemi (3,8 mld lat), a także ich wszechobecność we wszystkich ekosystemach oraz bogatą gatunkową różnorodność biologiczną. Prawdopodobnie problem z ustaleniem definicji gatunku w mikrobiologii tkwi w naszych narzędziach badawczych i możliwościach hodowli drobnoustrojów. Stosowane od XX wieku techniki analiz sekwencji 16S rRNA pozwalają zanalizować mikroorganizmy jedynie do poziomu rodzaju. W określeniu gatunku bakterii stosujemy technikę PCR do amplifikacji genu 16S rRNA, następnie taki amplifikowany fragment możemy poddać sekwencjonowaniu i otrzymaną sekwencję porównać z sekwencjami dostępnymi w bazach danych (Skowrońska i Zmysłowska 2006). Narzędzi do badania bioróżnorodności bakterii dostarcza wspomniana wcześniej proteomika, genomika, a także nowa dziedzina nauki – metagenomika, która swoje badania opiera na pozyskiwaniu sekwencji DNA ze wszystkich genomów z danego środowiska, co daje możliwość uzyskania informacji o genomach mikroorganizmów, których nikt wcześniej nie widział i nie potrafił dotąd wyhodować w laboratorium, gdyż – jak się okazuje – ogromna liczba bakterii nie jest zdolna do wzrostu w czystych kulturach. Ważne jest więc poszukiwanie nowych metod badawczych, aby identyfikować mikroorganizmy w ich naturalnych ekosystemach.

Taką nowoczesną metodą może być hybrydyzacja fluorescencyjna *in situ* (FISH), która umożliwia badanie całych zespołów mikroorganizmów. W metodzie tej identyfikacja mikroorganizmów zachodzi z wykorzystaniem hybrydyzacji oligonukleotydowej sondy molekularnej o znanej sekwencji z fragmentem genomu lub transkryptomu badanej bakterii (Więckowicz 2009, Mother i Goebel 2000).

Innymi molekularnymi technikami wykorzystywanymi do badań nad bioróżnorodnością mikroorganizmów w złożonych populacjach są techniki PCR, połączone

z rozdziałem elektroforetycznym w gradiencie czynnika denaturującego, analiza restrykcyjna amplifikowanych fragmentów rDNA, analiza polimorfizmu terminalnych fragmentów restrykcyjnych czy analiza długości sekwencji międzygenowych. Niewątpliwie stosowanie tych metod poszerza nieustannie naszą wiedzę o bioróżnorodności bakterii (Skowrońska i Zmysłowska 2006, Więckowicz 2009).

Połączenie współczesnych metod badawczych i tych z początku XX wieku, jak np. analiza zawartości zasad G+C w DNA, hybrydyzacja DNA, analiza porównawcza 16S rDNA, czy analiza porównawcza genów polimerazy RNA, gyrazy czy syntetazy glutaminy pokazuje istnienie ogromnej różnorodności genomowej gatunku bakteryjnego. Ta różnorodność genomowa, będąca wynikiem rearanzacji DNA, nagromadzenia mutacji punktowych czy wspomnianego horyzontalnego transferu genów jest siłą napędową ewolucji. Obecnie interesujący wydaje się trend wykorzystujący metodę MLSA (ang. *Multi Locus Sequence Analysis*) do badań nad wewnątrzgatunkową różnorodnością bakterii. W metodzie tej wykorzystywane są pełne sekwencje genomowe bakterii jako referencyjne standardy.

Niestety, badania nad genomami bakterii pokazały, jak trudne jest wspomniane wcześniej definiowanie gatunku w mikrobiologii. Okazuje się, iż szczepy jednego gatunku mogą zawierać indywidualne, unikalne dla siebie sekwencje genomowe. Takie zjawisko wykazano dla *H. pylori* czy *E. coli* K12. Swoiste dla poszczególnych szczepów w obrębie jednego gatunku geny bywają rozrzucone po całym genomie, i często kodują różne czynniki wirulencji, w tym białkowe toksyny (Brown 2009, Małek i wsp. 2008, Perna i wsp. 2001, Alm i wsp. 1999). Analizy fragmentów DNA przekazywanych pomiędzy bakteriami drogą horyzontalnego transferu genów mogą być zorganizowane w tzw. wyspy genomowe (ang. *genomic island*, GEI). Wśród GEI wyróżniamy m.in. wyspy patogenności (ang. *pathogenicity island*, PAI), gdzie zgrupowane są geny związane z patogenizacją bakterii. Szczególnie dużo PAI w swoim genomie posiadają pałeczki *Salmonella*, u których geny zlokalizowane w obrębie PAI zaangażowane są w różne działania wirulentne. Różnice w składzie genetycznym, dystrybucji czy modelu ewolucji tych wysp w obrębie pałeczek *Salmonella* mają niewątpliwie odzwierciedlenie w różnorodności jaką obserwujemy między serowarami *Salmonella* (Dera-Tomaszewska 2011).

Wśród bakterii chorobotwórczych dla roślin zaobserwowano natomiast interesującą bioróżnorodność pomiędzy szczepami należącymi do gatunku *Erwinia amylovora*. Bioróżnorodność ta jest wynikiem różnic w zawartości ich DNA plazmidowego, a tymi różnicami tłumaczy się zmienny poziom ich wirulencji wobec różnych gatunków roślin (Puławska i wsp. 2009).

Obecnie mikrobiolodzy nie są w stanie jednoznacznie stwierdzić, czy wiedza dotycząca bioróżnorodności bakterii jest kompletna i zadowalająca. Wynika to z trudności w hodowli wielu mikroorganizmów. Często ich zupełna „niehodowalność” w warunkach laboratoryjnych sprawia, iż mamy świadomość istnienia wielu nieodkrytych, nieopisanych jeszcze mikroorganizmów. W przypadku patogenów dochodzi uczucie bezradności w ich ujarzmieniu, mimo posiadanych potężnych narzędzi, jakich dostarcza nam obecnie biologia molekularna.

Literatura

- Alm R.A., Ling L-L. S., Moir D.T., 1999, *Genomic – sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastrin pathogen Helicobacter pylori*, *Nature*, 397, s. 176–180.
- Błaszczyk M.K., 2008, *Gdzie występują psychofile?*, *Post. Microb.*, 47, 3, s. 2017–213.
- Brown T.A., 2009, *Genomy*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Bugła G., Razik J., Doroszkiewicz W., 2003, *Zmienność antygenowa Shigella flexneri, a bakteriobójcze działanie surowicy*, [w:] *Materiały Naukowe VI Konferencji Biologia Molekularna w Diagnostyce Chorób Zakaźnych i Biotechnologii*, Wydawnictwo SGGW, s. 42–45.
- Bugła-Płoskońska G., Korzeniowska-Kowal A., Guz-Regner K., 2011, *Reptiles as a source of Salmonella O48 – clinically import bacteria for children, the relationship between resistance to normal cord serum and outer membrane protein patterns*, *Microb. Ecol.*, 61, s. 41–51.
- Bugła-Płoskońska G., Futoma-Kołodziej B., Rybka J., Gamian A., Doroszkiewicz W., 2010a, *The role of complement activity in the sensitivity of Salmonella O48 strains with sialic acid-containing lipopolysaccharides to the bactericidal action of normal bovine serum*, *Pol. J. Vet. Sc.*, 13, 1, s. 53–62.
- Bugła-Płoskońska G., Rybka J., Futoma-Kołodziej B., Cisowska A., Gamian A., Doroszkiewicz W., 2010b, *Sialic acid-containing lipopolysaccharides of Salmonella O48 strains-potential role in camouflage and susceptibility to the bactericidal action of normal human serum*, *Microb. Ecol.*, 59, s. 601–613.
- Bugła-Płoskońska G., Kiersnowski A., Futoma-Kołodziej B., Doroszkiewicz W., 2009, *Killing of Gram-negative bacteria with normal human serum and normal bovine serum: use of lysozyme and complement proteins in the death of Salmonella strains O48*, *Microb. Ecol.*, 58, s. 276–289.
- Bugła-Płoskońska G., Kiersnowski A., Futoma-Kołodziej B., Doroszkiewicz W., 2008, *Cooperation between lysozyme and complement system in bactericidal action of serum-is everything already clear?* *Centr. Europ. J. Immunol.*, 33, 2, s. 37–42.
- Bugła-Płoskońska G., Doroszkiewicz W., 2006, *Bactericidal activity of normal bovine serum (NBS) directed against some Enterobacteriaceae with sialic acid-containing lipopolysaccharides (LPS) as a component of cell wall*, *Pol. J. Microbiol.*, 55, 3, s. 169–174.
- Cortizo C., Lorenzo M.F., 2007, *Evaluation of early stages of oral streptococci biofilm growth by optical microscopy. Effect of antimicrobial agents*, [w:] A. Mendez-Vilas (Ed.), *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, Badajoz, Spain,
- Dera-Tomaszewska B., 2011, *Na wyspach Salmonella. Czternaście wysp patogenności bakterii z rodzaju Salmonella*, *Post. Microb.*, 50, 1, s. 51–58.
- Futoma B., Bugła-Płoskońska G., Doroszkiewicz W., 2005, *Bactericidal complement activity against Salmonella enterica strains*. *Pol. J. Environ. St.*, 14 suppl. II, s. 101–104.
- Maldonado N.C., Silva de Ruitz C., Cecilia A., Nader-Macias M.E., 2007, *A simple technique to detect Klebsiella biofilm – forming-strains. Inhibitory potential of Lactobacillus fermentum CRL 1058 whole cells and products*, [w:] A. Mendez-Vilas (Ed.), *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, Badajoz, Spain,
- Małek W., Wdowiak-Wróbel S., Kalita M., Szlachetka M., 2008, *Dylematy z koncepcją i definicją gatunku bakteryjnego*, *Post. Mikrob.*, 47, 3, s. 177–182.

- Mikkelsen H., Duck Z., Lilley K.S., Welch M., 2007, *Interrelationships between colonies, biofilms and planktonic cells of Pseudomonas aeruginosa*, J. Bacteriol., 6, 189, s. 2411–2416.
- Miller M.B., Bassler B.L., 2001, *Quorum sensing in bacteria*, Annu. Rev. Microbiol., 55, s. 165–199.
- Mother A., Goebel U.B., 2000, *Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms*, J. Microbiol. Meth., 41, s. 85–112.
- Niedzielski A., Koziół-Montewka M., Niedzielska G., Bogut A., Paluch-Pleś J., Kotowski M., Montewka M., Kasztelewicz B., 2006, *Rola biofilmu bakteryjnego w patogenezie wysiękowego zapalenia ucha środkowego*, Otolaryngologia, 5, 3, s. 103–106.
- Ochman H., Lawrence J.G., Groisman E.A., 2000, *Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation*, Nature, 405, s. 299–304.
- Perna N.T., Plunkett G., Burland V., 2001, *Genome sequence of enterohaemorrhagic Escherichia coli O157:H7*, Nature, 409, s. 529–532.
- Puławska J., Kielak K., Sobiczewski P., 2009, *Bioróżnorodność bakterii Erwinia amylovora – sprawcy zarazy ogniowej*, Post. Microb., 48, 2, s. 133–141.
- Różalska B., Sadowska B., 2012, *Zapobieganie powstawaniu biofilmów – perspektywiczne strategie ich eradykacji*, Sepsis, 3(2), s. 71–78.
- Salyers A.A., Whitt D.D., 2003, *Mikrobiologia. Różnorodność, chorobotwórczość i środowisko*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Skowrońska A., Zmysłowska I., 2006, *Współczesne metody identyfikacji bakterii stosowane w ekologii mikroorganizmów wodnych-fluorescencyjna hybrydyzacja in situ (FISH)*, Post. Microb., 45, 3, s. 183–193.
- Stańkowska D., Kaca W., 2005, *Systemy komunikacji międzykomórkowej bakterii gram-ujemnych i ich znaczenie w ekspresji cech fenotypowych*, Post. Microb., 44, 2, s. 99–111.
- Straus E.W., Straus A., 2009, *100 największych osiągnięć medycyny*, Świat Książki, Warszawa.
- Strużycka I., 2009, *Biofilm – nowe spojrzenie na etiologię przewlekłych chorób jamy ustnej*, Sepsis, 2, 4, s. 195–201.
- Taylor P.W., 1983, *Bactericidal and bacteriolytic activity of serum against gram-negative bacteria*, Microbiol. Rev., 47, s. 46–83.
- Tomas J.M., Ciurana B., Benedi V.J., Juarez A., 1988, *Role of lipopolysaccharide and complement in susceptibility of Escherichia coli and Salmonella typhimurium to non-immune serum*, J. Gen. Microbiol., 134, s. 1009–1016.
- Trafny E.A., 2009, *Zjadliwość biofilmu i możliwość jej ograniczania za pomocą środków przeciwbakteryjnych*, Sepsis, 2, 4, s. 183–187.
- Vimir E.R., Kalivoda K.A., Deszo E.L., Steenbergen S.M., 2004, *Diversity of microbial sialic acid metabolism*, Microb. Molec. Biol. Rev., 68, 1, s. 132–153.
- Watnick P., Kolter R., 2000, *Biofilm, city of microbes*, J. Bacteriol., 182, 10, s. 2675–2679.
- Więckowicz M., 2009, *Molekularne metody identyfikacji mikroorganizmów w złożonych ekosystemach*, Post. Microb., 48, 1, s. 67–73.

Biodiversity in bacteriology as a complex biological problem

Abstract

The microbial biodiversity in micro-scale started to be examined at the end of 17th century, when Anton van Leeuwenhoek, as the first researcher, used simple microscopes in observation and description of the small organisms: microbes. In the beginning of microbiology development, the world of unicellular bacteria was seen as uncomplicated, predictable in their simplicity, and bacteria were perceived as single, isolated cells existing in nature. The dynamic development of new research techniques, including molecular biology showed that this simplicity of bacterial structures, metabolism and ecology does not seem so obvious. An interesting point of microbial biodiversity is the biofilm formation by the bacteria, and the specialisation of bacterial cells within this structure. The present research indicated rich biodiversity of outer membrane structures not only between Gram-negative and Gram-positive groups of bacteria, but also between the cells of bacteria in species and subspecies. To consider this information about microbial biodiversity, it is advisable to pay attention to the concept and definition of bacterial species. The species concept in microbiology is still a controversial issue for taxonomists and microbiologists.

Gabriela Bugła-Płoskońska

Uniwersytet Wrocławski

Instytut Genetyki i Mikrobiologii

Zakład Mikrobiologii

e-mail: gabriela-bugla-ploskonska@microb.uni.wroc.pl