On the role of flagella in the adaptation of the PGPR *Azospirillum brasilense* to life on surfaces

Katsy E.I., Shelud'ko A.V., Petrova L.P., Filip'echeva Y.A., Yevstigneyeva S.S., Telesheva E.M., Mokeev D.I.

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms RAS, Saratov, Russia

E-mail: ei_katsy@mail.ru

Key message. The polar flagellum significantly affects the morphological and behavioral responses of the bacterium *Azospirillum brasilense* Sp245 to changes in the density of the medium and the maintenance of its biofilms at the interface between solid and liquid media.

Keywords: bacterial mechanosensory elements, bacterial cell differentiation, mixed flagellation, swarming, biofilm

The plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *A. brasilense* respond to variations in milieu density by changes in cell length, modes of flagellation (only the polar flagellum [Fla] or Fla and lateral flagella [Laf]), and lifestyle (swimming, swarming, or building colonies and biofilms). However, in these and other microbes, the mechanisms of perception of mechanical signals and of the development of response to such signals are poorly understood. The aim of this study was to analyze the role of flagella in the mechanoresponses of the bacterium *A. brasilense* Sp245. Molecular genetic, microbiological, and bioinformatic methods were used. It is shown that in *mmsB1*, *fabG1*, and *flhB1* mutants, defects in flagellation and motility are accompanied by a decrease in the amount of biomass in mature biofilms. Complementation of the mutants with the corresponding genes of strain Sp245 results in the restoration of flagellation and motility and in an increase in biofilm biomass amount and stability. For the formation of working Laf, native Fla must be present on the cell. Only Fla is detected in *Azospirillum* biofilms at the interface between solid and liquid media. Preliminary data suggest that the morphological responses of azospirilla to shifts in the density of the media are affected by the FlhB1 protein of the flagellar export apparatus and putative hybrid multisensor histidine kinase/response regulator, which is encoded by the gene adjacent to *flhB1*.

The authors thank the IBPPM RAS Symbiosis Centre for the Collective Use of Research Equipment (Saratov, Russia) for technical support. The reported study was partially funded by RFBR, project number 20-04-00006-a.

О роли жгутиков в адаптации PGPR *Azospirillum brasilense* к жизни на поверхностях

Кацы Е.И., Шелудько А.В., Петрова Л.П., Филипьева Ю.А., Евстигнеева С.С., Телешева Е.М., Мокеев Д.И.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия

Аннотация. Полярный жгутик вносит существенный вклад в морфологические и поведенческие ответы бактерии *A. brasilense* Sp245 на изменения в плотности среды и в стабилизацию её биопленок на интерфазе между плотными и жидкими средами.

Ключевые слова: бактериальные механосенсорные элементы, дифференциация клеток бактерий, смешанное жгутикование, роение, биопленка

Стимулирующие рост растений ризобактерии (PGPR) *A. brasilense* отвечают на вариации в плотности окружающей среды изменениями длины и характера жгутикования клеток (только полярный жгутик [Fla] или Fla и латеральные жгутики [Laf]) и образа жизни (плавание, роение или строительство колоний и биопленок). Однако механизмы восприятия механических сигналов и выработки ответа на них у этих и других микробов мало изучены. Цель работы – анализ роли жгутиков в механоответах бактерии *A. brasilense* Sp245. Используются методы молекулярной генетики, микробиологии, биоинформатики. Показано, что у *mmsB1*, *fabG1*, *flhB1* мутантов дефекты в жгутиковании и подвижности сопровождаются снижением количества биомассы в зрелых биопленках, а комплементация мутантов соответствующими генами штамма Sp245 приводит к восстановлению жгутикования и подвижности, увеличению накопленной биомассы в биопленках и повышению их стабильности. Присутствие на клетке активного Fla необходимо для образования работающих Laf. В биопленках азоспирилл, сформированных на интерфазе между плотными и жидкими средами, выявляется только Fla. Получены предварительные данные о том, что белок FlhB1 аппарата экспорта флагеллярных белков и предполагаемая гибридная мультисенсорная гистидинкиназа/регулятор ответа, кодируемая соседним с *flhB1* геном, оказывают влияние на морфологический ответ азоспирилл на сдвиги в плотности среды.

Авторы благодарят ЦКП "Симбиоз" ИБФРМ РАН (Саратов, Россия) за помощь в работе. Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00006-a.