

# Odkryj tajemnice mikrobiomów glebowych: czy rośliny bobowate selektywnie filtrują nierizobiowe endofity (NRE) zasiedlające ich brodawki korzeniowe?



Magdalena Wójcik, Kamil Żebracki, Piotr Koper, Małgorzata Marczak, Andrzej Mazur  
Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Instytut Nauk Biologicznych  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

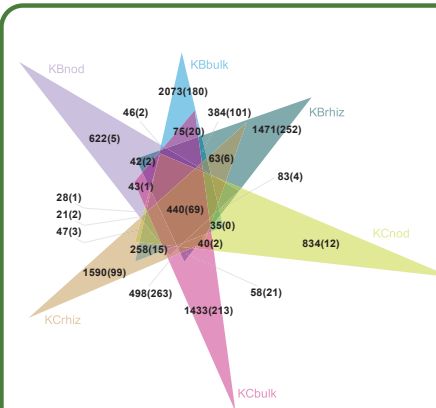
## Wprowadzenie i cel pracy

Symbioza rizobów z roślinami bobowatymi jest specyficzna, co oznacza, że określone gatunki bakterii zakażają określone gatunki roślin. Do niedawna uważano, że rizobia są jedynymi bakteriami zasiedlającymi brodawki korzeniowe tych roślin. Obecnie wiadomo, że mikrobiota brodawki to również inne bakterie określane jako endofity nierizobiowe (ang. *non-rhizobial endophytes*, NRE), które stanowią ważny element fitomikrobioty i mają duży wpływ na efektywność symbiozy i „fitness” roślin.

**Celem pracy** było sprawdzenie czy rośliny mogą dokonywać selektywnego filtrowania NRE pod kątem zmaksymalizowania korzyści płynących z obecności określonych gatunków tych bakterii w brodawkach korzeniowych

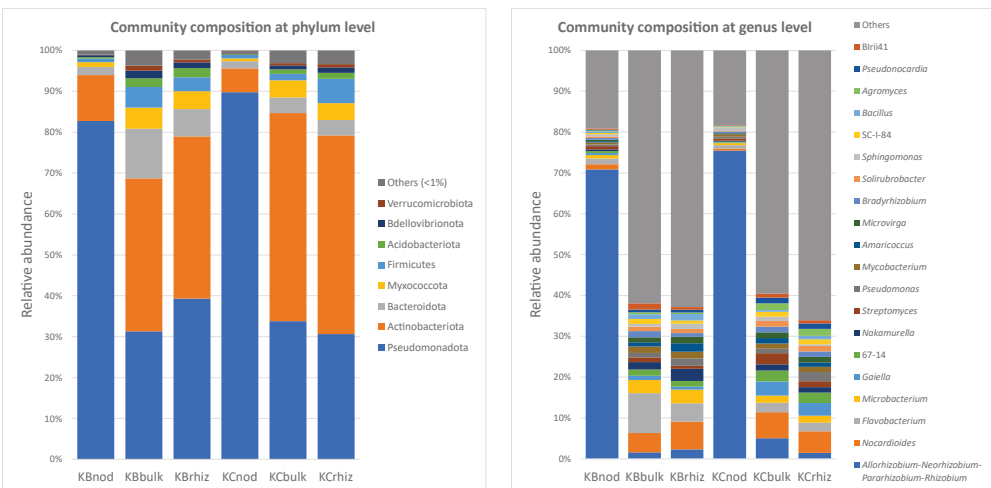
## Wyniki i wnioski

Przeprowadzono profilowanie składu mikrobioty brodawek korzeniowych, gleby ryzosferowej oraz tzw. gleby masowej (ang. *bulk soil*) koniczyny białej (KB) i łąkowej (KC) z wykorzystaniem sekwencjonowania NGS hiperzmiennego regionu V5–V7 16S rRNA. Uzyskane odczyty sekwencji sklasyfikowano do 31677 ASV (*amplicon sequence variant*). Liczba ASV w pojedynczych próbkach wynosiła od 508 do 2506 (średnio 1760 ASV), z łączną liczbą 11955 unikalnych ASV we wszystkich badanych próbkach.



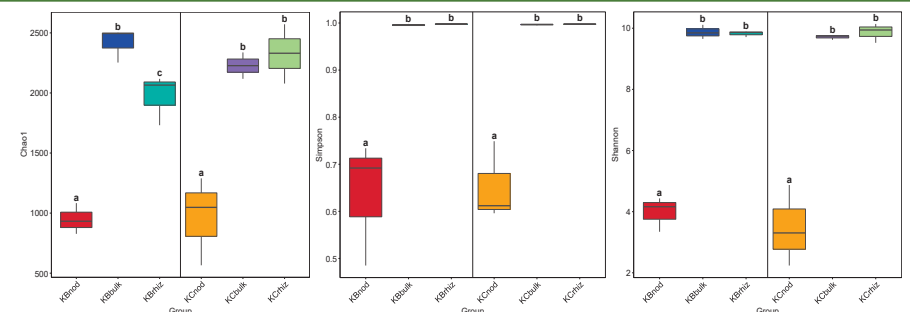
440 ASV (3,7%) było wspólnych dla wszystkich próbek (Rys. 1). Największą liczbę unikalnych ASV zaobserwowano w próbkach gleby masowej koniczyny białej (KBbulk), a najmniejszą w jej brodawkach korzeniowych (KBnod). 437 ASV mikrobioty koniczyny białej było wspólnych dla gleby ryzosferowej (KBrhiz) i masowej (KBbulk), a mikrobiom rdzeniowy KB obejmował 179 ASV. W przypadku koniczyny czerwonej 690 ASV było wspólnych dla próbek gleby masowej i ryzosferowej (KCbulk i KCrhiz), a 122 ASV stanowiło mikrobiom rdzeniowy KC (Rys. 1).

Rys. 1. Diagram Venna pokazujący liczbę wspólnych i unikatowych ASV analizowanych wariantów eksperymentalnych. W nawiasach przedstawiono całkowitą liczbę ASV wykrytych we wszystkich trzech powtórzeniach dla każdego z wariantów



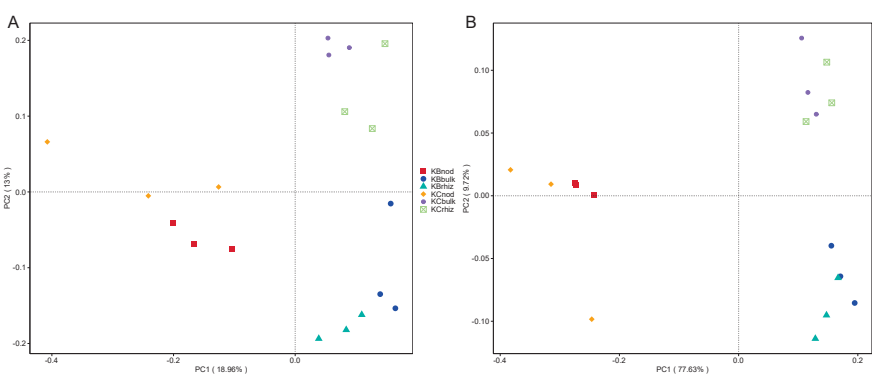
Rys. 2. Względna obfitość taksonów (relative taxa abundance) na poziomie gromady (A) i rodzaju (B) mikrobioty koniczyny białej i czerwonej. Wykresy przedstawiają 20 najliczniej reprezentowanych taksonów

Profilowanie składu mikrobioty KB i KC wykazało różnice względnej obfitości taksonów pomiędzy brodawkami i próbkami gleby. Pseudomonadota i Actinobacteriota były najliczniejszymi typami we wszystkich analizowanych próbkach. Rodzaj *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* dominował w brodawkach korzeniowych (Rys. 2).



Rys. 3. Wskaźniki alfa różnorodności mikrobioty związanej z koniczyną białą i czerwoną, na podstawie indeksów Chao-1 (A), Shannona (B) oraz Simpsona (C). Litery „a, b, c” na poszczególnych wykresach wskazują istotne statystycznie różnice ( $p < 0,005$ ) między porównywanymi grupami

Wskaźniki alfa różnorodności (indeksy Chao1, Shanona i Simpsona) wskazują na duże bogactwo i różnorodność gatunków mikrobioty związanej z KB i KC. Liczba zaobserwowanych gatunków mikrobioty brodawek KB i KC była istotnie niższa niż w obydwu wariantach eksperymentalnych gleby (tj. gleby ryzosferowej i masowej), a w przypadku próbek z koniczyny białej także istotnie niższa w próbkach KBrhiz względem KBbulk (Rys. 3a). Wartości indeksów Simpsona i Shannona są mniejsze w przypadku brodawek, co wskazuje, że mikrobiota tej części roślin jest mniej zróżnicowana i ma mniej równomierny rozkład taksonów w porównaniu z glebą masową i ryzosferową (Rys. 3b, c).



Rys. 4. Analizę składowych głównych (PCoA) w oparciu o metryki UniFrac (unweighted „A” and weighted „B”) dla próbek mikrobioty związanej z brodawkami, glebą ryzosferową i masową koniczyny białej i czerwonej

Dla oceny beta różnorodności mikrobioty związanej z koniczyną białą i czerwoną przeprowadzono analizę składowych głównych (PCoA) w oparciu o metryki UniFrac (unweighted and weighted) (Rys. 4). Zarówno w przypadku KB jak i KC, separacja próbek względem osi głównych współrzędnych PCoA sugeruje odrębność składu społeczności mikroorganizmów w brodawkach względem tych w ryzosferze i glebie masowej dla obydwu typów roślin. Zróżnicowane wzorce grupowania próbek mikrobioty gleby KB i KC sugerują, że zespoły drobnoustrojów związane ze środowiskiem glebowym każdego rodzaju koniczyny są odmienne.

**Wniosek:** profilowanie składu mikrobioty związanej z glebą i brodawkami koniczyny białej i czerwonej oraz różnice dotyczące składu i bioróżnorodności zidentyfikowanych konsorcjów bakteryjnych nie wykluczają istnienia mechanizmu selektywnego filtrowania mikroorganizmów (w tym NRE) wchodzących w skład fitomikrobioty roślin.