



Universiteit
Leiden
The Netherlands

From the root of variation: A metabolomics perspective to plant soil-feedback

Huberty, M.D.

Citation

Huberty, M. D. (2020, November 24). *From the root of variation: A metabolomics perspective to plant soil-feedback*. NIOO-thesis. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/138402>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/138402>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/138402> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Huberty, M.D.

Title: From the root of variation: A metabolomics perspective to plant soil-feedback

Issue date: 2020-11-24

Samenvatting

De bodem is niet alleen een substraat waar planten in kunnen groeien, maar het is ook een substantieel deel van het systeem waarin planten leven en het definieert de identiteit van planten. Wanneer planten in een bodem groeien, veranderen ze de abiotische en biotische eigenschappen van de bodem. Deze effecten op de bodem zijn specifiek per plantensoort en kunnen, grotendeels door middel van veranderingen in de compositie van bacteriële en schimmelgemeenschappen, de eigenschappen van planten die later in dezelfde bodem groeien veranderen. Deze door de plant veroorzaakte veranderingen in de bodem, ook wel plant-bodem wisselwerking genoemd, kunnen de biomassa van en de concentratie van specifieke chemische stoffen in de plant veranderen. Dit is waarschijnlijk ook direct gerelateerd aan hoe goed insecten die een interactie hebben met deze planten het doen. Onderzoek naar veranderingen in de chemie van de plant door bodem erfenissen is vaak doelgericht, met een gefocus op één enkele, of een kleine hoeveelheid specifieke stoffen. Het metabooloom van planten bestaat echter uit honderden tot duizenden verschillende metabolieten. Untargeted metabolomics richt zich op het meten van alle metabolieten die zich in een organisme bevinden en op deze manier kan een algemeen overzicht gecreëerd worden. Moderne metabolomics maakt het mogelijk om de volledige respons van het metabooloom op ecologische veranderingen die planten ondergaan te bestuderen, zoals veranderingen in de bodem. In deze thesis heb ik de mogelijkheden van deze metabolomics technieken benut om de vraag te beantwoorden of, en hoe, het metabooloom van planten verandert als de bodem verandert.

Ten eerste heb ik onderzocht in een aantal verschillende planten soorten of de effecten van bodems op het metabooloom vergelijkbaar zijn. Daarnaast heb ik onderzocht of het effect van bodems op het metabooloom evenveel effect heeft als dat van herbivorie door rupsen, waarvan bekend is dat het een grote impact heeft op het metabooloom. Hiervoor heb ik een volledig gekruist design gebruikt, waarin ik de metabolische respons van 12 plantensoorten gemeten heb als ze groeiden op bodems van elk van deze soorten. Om de veranderingen in het metabooloom door zogenaamde bodem nalatenschappen en insectenvraat te evalueren, zijn de scheuten van alle planten geanalyseerd met ^1H kernspinresonantie (ook wel ^1H NMR genoemd). Bij 7 van de 12 plantensoorten werd een significant deel van de variantie verklaard door de bodembehandeling. Dit effect was sterker dan dat van insectenvraat. De invloed van de bodem op het metabooloom van planten bleek dus vrij algemeen. De bodem waarin een plant

groeit zou daarom één van de factoren kunnen zijn die de vaak onverklaarbare intraspecifieke variatie in de chemische compositie van planten kan verklaren.

Bacteriële en schimmelgemeenschappen in de bodem zijn niet alleen afhankelijk van de plantensoorten die in de grond groeien, maar de dichtheid en samenstelling van bacterien en schimmels in de bodem kan sterk variëren over afstanden van millimeters of centimeters. In de natuur is de microbiele bodemgemeenschap belangrijk voor de samenstelling van planten- en insectengemeenschappen. Tot nu toe was het echter niet bekend hoe deze ruimtelijke variatie in het bodemmicrobioom de chemische compositie van planten kan beïnvloeden. Om deze vraag te kunnen beantwoorden, heb ik een experiment opgezet waarbij steriele grond werd geïnoculeerd met grond afkomstig van vier verschillende graslanden. De bodemmonsters werden in elk veld verzameld volgens een ruimtelijk patroon waardoor de afstand tussen de monsters bekend was. Identieke klonen van de plant jakobskruiskruid (*Jacobea vulgaris*) werden vervolgens gegroeid in potten met verschillend geïnoculeerde bodems. Met behulp van ¹H NMR werd het metabooloom van het blad bestudeerd. De metabolische profielen van de planten vertoonden leken meer op elkaar als de bodem monsters dicht bij elkaar genomen waren. Echter, slechts voor bodem van één van de vier graslanden was het metabooloom significant anders dan dat van planten gegroeid in steriele grond. Dit bewijst dat ruimtelijke variatie in bodems een effect kan hebben op het metabooloom van planten, maar ook dat niet alle bodem inocula het metabooloom beïnvloeden.

De invloed veranderingen in de bodem door planten die eerder in de grond groeiden, hangt ook af van hoe lang de eerste plantensoort in de grond gegroeid heeft. Om de variatie in bodem erfenissen vanuit een temporeel perspectief te onderzoeken, heb ik gedurende een jaar, herhaaldelijk plant-bodem wisselwerkingen geanalyseerd door de biomassa, de mate van herbivorie en de metabolische compositie te meten bij genetisch identieke *J. vulgaris* planten in monocultuurgronden. De biomassa van de planten in de verschillende bodems veranderde niet heel sterk over tijd, maar de effecten van de bodems op het metabooloom van de planten bleek sterk te verschillen gedurende het jaar. Aangezien bacteriële en schimmelgemeenschappen de oorzaak kunnen zijn van deze effecten, werden deze gemeenschappen geanalyseerd. Hieruit bleek dat bacteriële gemeenschappen het meest verschilden over de tijdspan van het onderzoek, terwijl de schimmelgemeenschappen het meest varieerden tussen verschillende monocultuurbodems. De metabolische veranderingen

van de planten kon gerelateerd worden aan de veranderingen in de bacteriële gemeenschappen in de bodem. De effecten op de biomassa waren meer gerelateerd aan de verschillen in schimmelmilieus in de bodems. Dit onderzoek levert bewijs dat er een duidelijk verschil is tussen de effecten van schimmelmilieus en bacteriële gemeenschappen op planten over een tijdspanne.

De vorige hoofdstukken van deze thesis waren gebaseerd op een vaak gebruikte metabolomics techniek - ^1H NMR, een platform dat een globaal overzicht geeft van het metaboloom en de detectie mogelijk maakt van veel verschillende stoffen binnen het metaboloom. Het ultieme doel van metabolomics is echter de extractie en detectie van alle metabolieten binnen een organisme. Het is op dit moment nog niet mogelijk om dit te bereiken met één enkele techniek. In dit laatste hoofdstuk geef ik een overzicht van de platformen die nu beschikbaar zijn voor metabolomics en beschrijf ik met het voorbeeld van de paardenbloem (*Taraxacum officinale*) hoe de mogelijkheden en tekortkomingen van elk platform kunnen worden gecombineerd. Ik gebruikte een combinatie van ^1H NMR, high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) en vloeistofchromatografie, gekoppeld aan massaspectrometrie (LC-MS-MS) om de effecten van insectenvraat op paardenbloem te bestuderen. Het concept van HPTLC wordt geïntroduceerd en ik demonstreer hoe het gebruikt kan worden voor metabolische fingerprints en voor de scheiding van stoffen, die daarna geanalyseerd kunnen worden met andere methoden. Met HPTLC was het mogelijk om een chemische stof te concentreren en identificeren genaamd campesterol, die met conventionele methoden nog niet eerder was gedetecteerd, maar wel een significante reactie vertoonde op herbivorie. Dit benadrukt het belang van de nieuwe metabolomics technieken in ecologische onderzoeken.