



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Understanding disease suppressive soils: molecular and chemical identification of microorganisms and mechanisms involved in soil suppressiveness to *Fusarium culmorum* of wheat

Ossowicki, A.S.

Citation

Ossowicki, A. S. (2021, June 1). *Understanding disease suppressive soils: molecular and chemical identification of microorganisms and mechanisms involved in soil suppressiveness to *Fusarium culmorum* of wheat*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3180746>

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/1887/3180746>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <https://hdl.handle.net/1887/3180746> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Ossowicki, A.S.

Title: Understanding disease suppressive soils: molecular and chemical identification of microorganisms and mechanisms involved in soil suppressiveness to *Fusarium culmorum* of wheat

Issue Date: 2021-06-01

Streszczenie

Gleba jest siedliskiem zróżnicowanych mikroorganizmów będących niezbędnymi do funkcjonowania ekosystemów lądowych. Bakterie, grzyby, protisty, wirusy i inne mikroorganizmy żyjące w glebie zasiedlają korzenie roślin w odpowiedzi na związki chemiczne wydzielane przez nie tworząc ryzosferę – nadzwyczajny ekosystem, w którym mikroorganizmy żyją w ściślejszej współpracy z roślinami. Pula mikroorganizmów (mikrobiom) zasiedlających ryzosferę pełni funkcje mające korzystny wpływ na rośliny takie jak: udział w pobieraniu związków pokarmowych, wydzielanie związków promujących wzrost roślin lub też pośredni albo bezpośredni udział w ochronie rośliny przed czynnikami biologicznymi (np. patogenami) lub fizycznymi. W przeciwieństwie do mikrobiomu pełniącego korzystne funkcje względem roślin w glebie występują też mikroorganizmy patogenne które wywołując choroby stanowią istotny element redukujący plony lub czyniący plon niezdatnym do użytku poprzez kontaminację produktami swojego metabolizmu (np. toksynami). Zwykle ochrona upraw przed chorobami wymaga stosowania środków ochrony roślin, które wywierają zgubny wpływ na środowisko jak i obniżają jakość upraw. Szczególnie zboża, ale także inne uprawy, są często ofiarą patogennych grzybów z rodzaju *Fusarium*. Patogeny te nie tylko znacząco obniżają plony, ale także zanieczyszczają ziarno mykotoksynami powodując ich niezdatność do spożycia. W mojej pracy, zajmowałem się tak zwanymi glebami hamującymi, których unikalny mikrobiom nie dopuszcza do wykształcenia symptomów chorobowych pomimo obecności patogenu oraz sprzyjających warunków do wystąpienia choroby. Dokładnie, glebami hamującymi na których pszenica nie przejawiała symptomów chorobowych wywołanych przez patogen grzybowy *Fusarium culmorum*. Gleby hamujące są rozpoznawane na całym świecie, niemniej jednak w większości przypadków, pomimo rozpoznania biologicznych podstaw aktywności, dokładne mechanizmy ich działania są niejasne. Głównym celem mojej pracy jest rozwikłanie mechanizmów biologicznej aktywności gleb hamujących zaangażowanych w ochronę pszenicy przed *F. culmorum*.

Rozpoczęliśmy naszą pracę od przesiewowego badania gleb znajdujących się na terenie Holandii i Niemiec pod kątem fenotypu gleby hamującej. Wśród 28 przetestowanych przez nas prób, w 4 znaleźliśmy wysoki poziom hamowania *F. culmorum*, po czym poprzez sterylizację i transplantację gleby wykazaliśmy, że hamowanie to ma podłoże (mikro)biologiczne. Po przeanalizowaniu profili taksonomicznych mikrobiomów wszystkich analizowanych przez nas gleb jak i ich właściwości fizyko-chemicznych, wykazaliśmy, że gleby hamujące z naszej kolekcji nie wykazują znaczących podobieństw w ani w profilu taksonomicznym mikrobiomu, ani w charakterystyce fizyko-chemicznej. Nasze kolejne badania wykazały, że związki lotne emitowane przez mikroorganizmy zasiedlające badane

przez nas gleby hamujące mogą mieć związek z obserwowaną ochroną pszenicy, ale nie w każdym przypadku. Następnie, przeanalizowaliśmy profile genów funkcyjnych domen adenylacji. Są one elementami klastrów genów biosyntezy metabolitów wtórnych takich jak: poliketydy, peptydy pochodzenia nierybosomalnego czy terpeny. Produkcja tych metabolitów jest często powiązana z mechanizmami ochrony roślin występującymi w glebach hamujących. Analiza profili domen adenylacji wykazała, że badane przez nas gleby hamujące posiadają podobną strukturę sieci tych domen. Dalsze analizy bioinformatyczne oparte o te profile sugerują istotną rolę sideroforów oraz konkurencji o żelazo w badanych przez nas glebach hamujących. Mikrobiom gleby hamującej wykazujący najwyższy poziom ochrony przed patogenem – gleby S11, został przez nas poddany analizie z udziałem perturbacji poprzez jego ekstrakcję, seryjne rozcieńczenie oraz wprowadzenie do sterylnej gleby. W testach fenotypowych wykazaliśmy, że mikrobiom gleby S11 poddany takiej perturbacji nadal jest w stanie chronić pszenicę przed patogenem jednak traci tą zdolność wraz ze wzrastającym rozcieńczeniem w sposób nieliniowy. Następnie, przeanalizowaliśmy dane metagenomowe uzyskane z sekwencjonowania mikrobiomów ryzosfery pszenicy hodowanej w tym eksperymencie wykazując, znaczące zmiany w różnorodności genetycznej oraz strukturze mikrobiomu pomiędzy rozcieńczeniami. Grupy bakterii uprzednio powiązane z żyznością gleby oraz glebami hamującymi (np. *Streptomyces*, *Acidobacteria* and *Verrucomicrobia*) znacząco zmniejszyły swój względny udział w mikrobiomie przy wyższych rozcieńczeniach. Ponadto, przy niższych rozcieńczeniach, które wciąż znacząco chroniły pszenicę przed patogenem, znaleźliśmy wysoki udział genów związanych z pobieraniem żelaza przez mikroorganizmy, chitynaz oraz elementów systemu sekrecji typu szóstego. Znaleźliśmy także związek pomiędzy hamowaniem patogenu, a obecnością dziesięciu genomów bakterii uzyskanych z metagenomów, które posiadają szereg nowych, nie-opisanych wcześniej biosyntetycznych klastrów genów. W końcu, zbadaliśmy wpływ plastiku w glebie hamującej na jej mikrobiom, wzrost roślin oraz hamowanie patogenu. Wykazaliśmy, że pomimo braku wpływu plastiku na przeciwdziałanie rozwojowi choroby, ma on negatywny wpływ na biomasę rośliny oraz jej stan odżywienia. Ponadto, obecność cząstek plastiku w glebie tworzy nową niszę ekologiczną która może mieć dalekosiężny wpływ na bioróżnorodność oraz funkcjonowanie gleby.

Podsumowując, praca ta zawiera identyfikację gleb hamujących oraz domniemyanych mikroorganizmów, genów, metabolitów i mechanizmów leżących u podstaw ich funkcjonowania, jak również badania nad wpływem plastiku w glebie na jej mikrobiom, funkcjonowanie i zdrowie roślin. W oparciu o uzyskane wyniki udało nam się wygenerować szereg hipotez których weryfikacja będzie prowadziła do przybliżenia rozwikłania biologicznych mechanizmów aktywności gleb hamujących oraz wpływu plastiku na ekosystemy lądowe.