

Projekt z bioinformatiky 1

Metagenomický screening mikrobiomu půdy

Lucie Kajan Grodecká, Ph.D.

Cíl

sledovat vliv **půdních mikrořas**
na složení mikrobiomu půdy

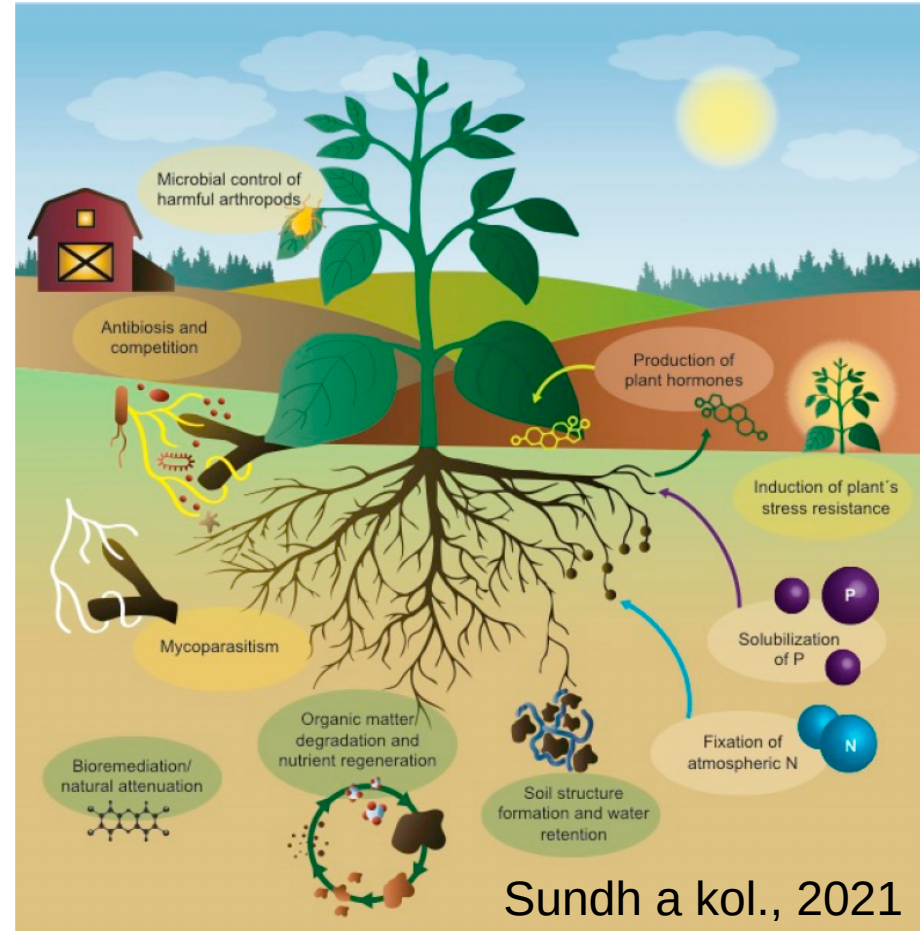
Cíl

sledovat vliv **půdních mikrořas**
na složení mikrobiomu půdy

i s ohledem na navrhované využití mikrořas jako biohnojiv

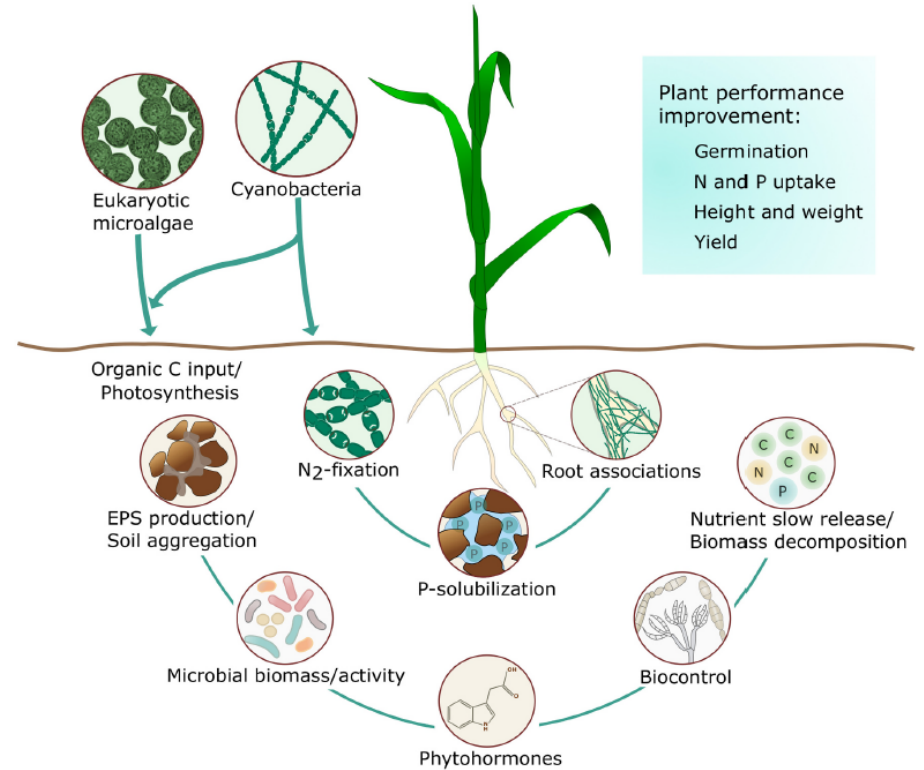
Půdní mikrobiom

- mikrobiom: soubor mikroorganismů v určitém prostředí a čase (dynamika)
- půdní: bakterie, houby, archea, protista a viry
- řada esenciálních ekologických funkcí (obr.)



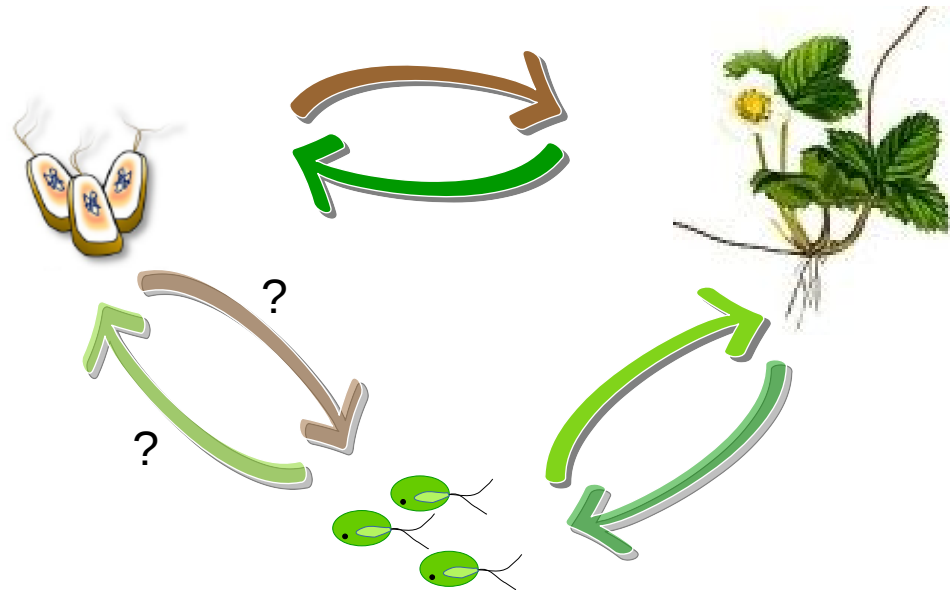
Mikrořasy v půdě

- mikrořasy: běžná součást mikrobiomu půdy (sinice i eukaryota)
- dodávají půdě N, P a C (org.)
- vyrovnávají pH půdy
- vyvazují xenobiotika a těžké kovy
- chrání rostliny proti patogenům
- stimulují růst rostlin



Mechanizmy působení mikrořas

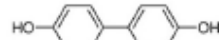
- Působení mikrořas na ostatní složky mikrobiomu půdy – studované zatím jen okrajově



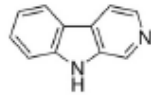
Mechanizmy působení mikrořas

Inhibitory compounds against phytopathogens

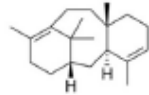
Antibacterial activity



4,4'-dihydroxybiphenyl

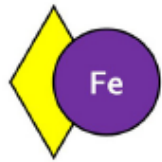


Norharmane



Diterpenoids

Nutrients competition



Siderophore

Cell wall-degrading enzymes



Chitinase
 β -1, 4-glucanase
 β -1, 3-glucanase

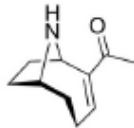


Bacteria

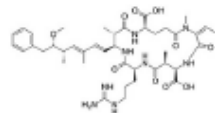


Fungi

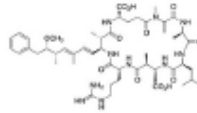
Neurotoxin and Hepatotoxin



Anatoxin



Microstins



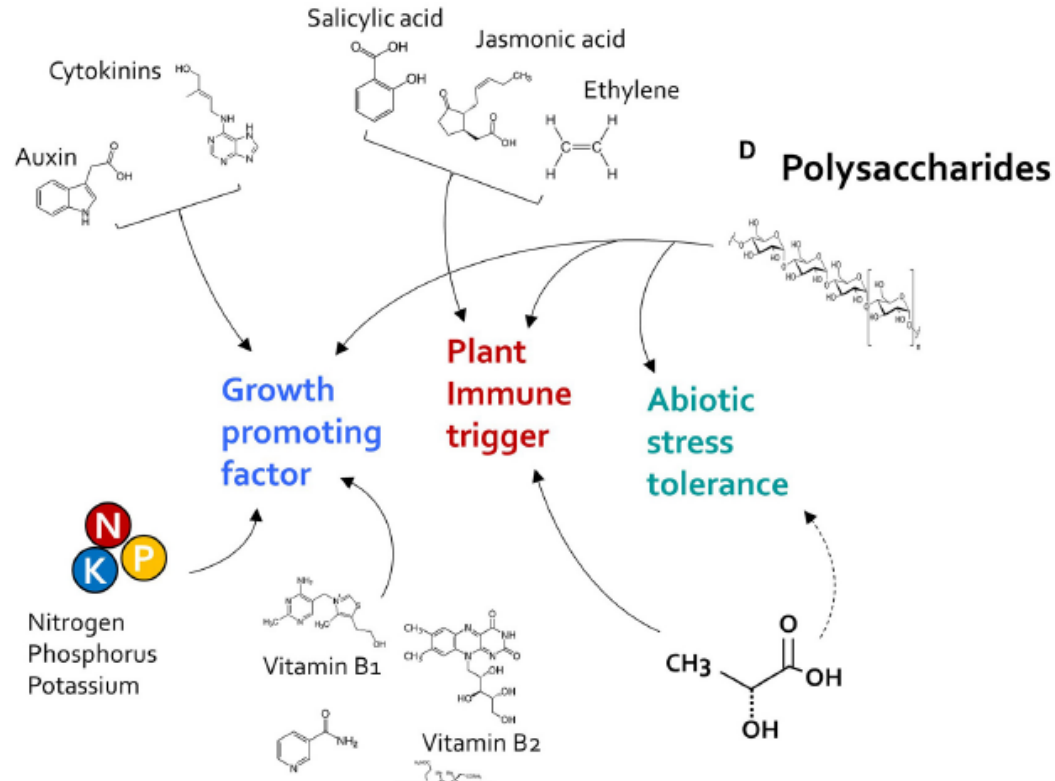
Nodularin



Insect pests and nematodes

Mechanismy působení mikrořas

B Mimic phytohormones



Naše experimentální STRATEGIE

- *Metagenomický screening* – korelace mikrořas s dalšími mikroorganismy
- *Screening bioaktivity mikrořas* – vytipování biocidních a biostimulačních kmenů
- *Analýza ovlivnění konkrétních půdních mikrobiomu in vitro*

Metagenomický screening

- vzorky orné půdy (8+2 páry)
 - aspoň 3 metry od okraje pole
 - neorané
- párově: povrchové (0-5 cm) a podpovrchové (15-20 cm)
- 2 odběry v duplikátech (cca 10-15 m od sebe)

Technika odběru

- technika odběru:
 - 1) zaznamenám souřadnice
 - 2) očistím lopatku ubrouskem s lihem
 - 3) odeberu vrchní vzorek (vrstva 0-5 cm, cca 20-30 ml)
 - 4) vykopu jamku do hloubky cca 15 cm
 - 5) očistím lopatku ubrouskem a vodou od pevných částí
 - 6) očistím lopatku ubrouskem s lihem
 - 7) odeberu spodní vzorek (vrstva 15-20 cm, cca 20-30 ml)
 - 8) co nejrychleji vzorek dopravím do lednice, příp. přes noc uskladním na -18 °C
 - 9) vzorek odevzdám na BFU (chlazení po cestě výhodou)

Metagenomický screening

- Biofyzikální ústav: izolace DNA, sekvenace NanoPore, příprava na sekvenaci Illuminou (amplifikace 16S a 18S rDNA)
 - Ústav experimentální botaniky: sekvenace (Illumina)
 - Ústavu půdní biologie a biogeochemie: analýza biogeochemie vzorků půd
 - vy: bioinformatická analýza získaných sekvencí
- korelace výskytu mikrořas s dalšími mikrobioty, s ohledem na biochemické vlastnosti půdy

Další experimenty

- *Screening bioaktivity mikrořas* – působení vybraných kmenů mikrořas na konkrétní bakterie a plísně *in vitro* – MBÚ
 - pilotní projekt na vytipování nejzajímavějších kmenů, 9-10/2022
- *Analýza ovlivnění mikrobiomu půdy in vitro* – 3 typy půdy, 2-3 typy mikrořas – živé buňky / extrakty / extrakty – / konkrétní vytipované látky (např. cytokininy)
 - MBÚ: výběr a příprava mikrořasových kmenů, ošetření půd
 - BFÚ + ÚEB: metagenomika
 - ÚPBB: analýza biogeochemie vzorků půd
 - vliv přídatku mikrořas a jejich extraktů / konkrétních metabolitů na mikrobiom
 - Začátek 11/2022

Naše STRATEGIE

- Propojením několika pracovišť
 - Ústavu půdní biologie a biogeochemie (České Budějovice)
 - Mikrobiologického ústavu (Algatech, Třeboň)
 - Biofyzikálního ústavu (Brno)
 - Ústavu experimentální botaniky (Olomouc)
- získat komplexní náhled na vliv mikrořas na dynamiku půdního mikrobiomu
 - i s ohledem na navrhované využití mikrořas jako biohnojiv