

Ograniczanie nawożenia azotowego zmienia sieci mikrobiomu w niszy rolniczej pod uprawą kukurydzy

Agnieszka Kuźniar¹, Anna Kruczyńska¹, Sara Jurczyk³, Artur Banaś¹, Jacek Podlewski², Andrzej Słomczewski², Agnieszka Wolińska¹

¹Katedra Biologii i Biotechnologii Mikroorganizmów, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Lublin

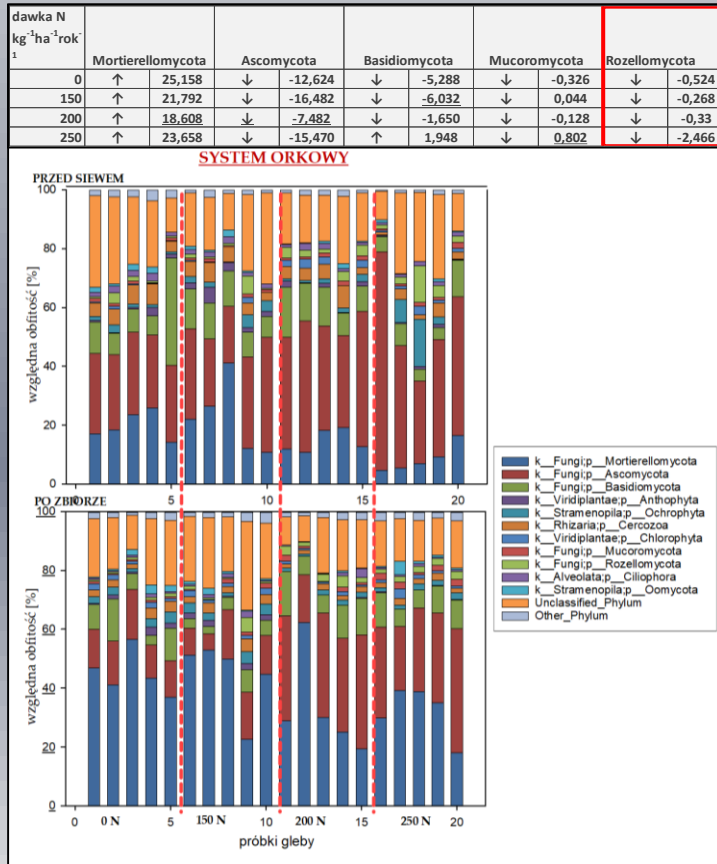
²Fundacja Potulicka, Wojnowo

³Katedra Sztucznej Inteligencji, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Lublin

Cel badań

Analiza mikrobiomu bakteryjnego i mykobiomu grzybowego w glebach rolniczych w odpowiedzi na 4 różne dawki azotu (0, 150, 200 i 250 kg⁻¹ha⁻¹rok⁻¹) w glebie pod uprawą kukurydzy w systemie orkowym i bezorkowym

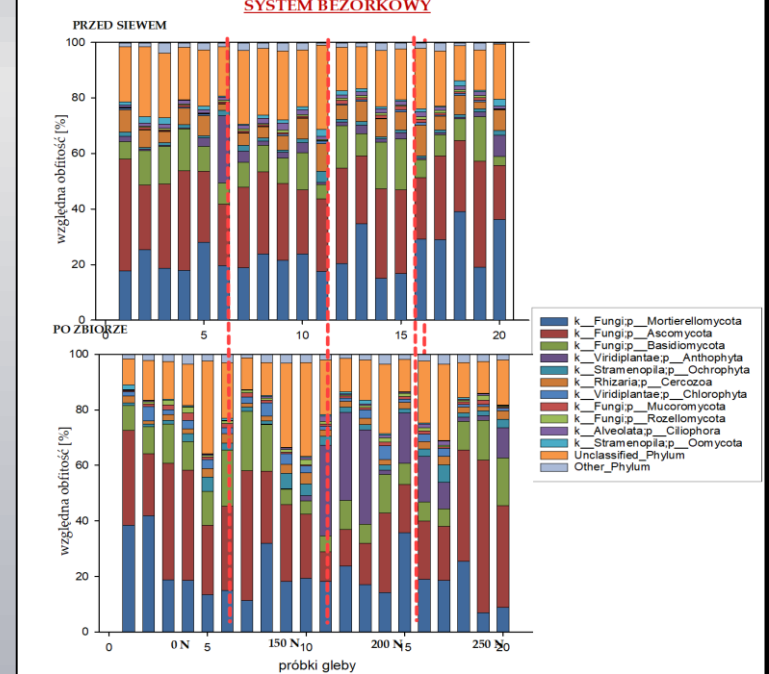
Wzbogacenie gleby azotem pod uprawą kukurydzy spowodowało zmiany struktury sieci mykobiomu glebowego. Odnotowano, obniżenie (↓) względnej obfitości przy zastosowaniu 250 kg⁻¹ha⁻¹rok⁻¹. Wyznaczono, że wartość ta jest statystycznie istotna dla tej dawki N (ANOVA, p=0,000; Rys. 1). Sieci mykobiomu w uprawie orkowej charakteryzowały się mniejszą dynamiką zmian odnośnie struktury. Zdecydowanie odmiennie na ilość stosowanego N reagował mykobiom w glebie spod uprawy kukurydzy w systemie bezorkowym (Rys. 4).



Materiały i metody

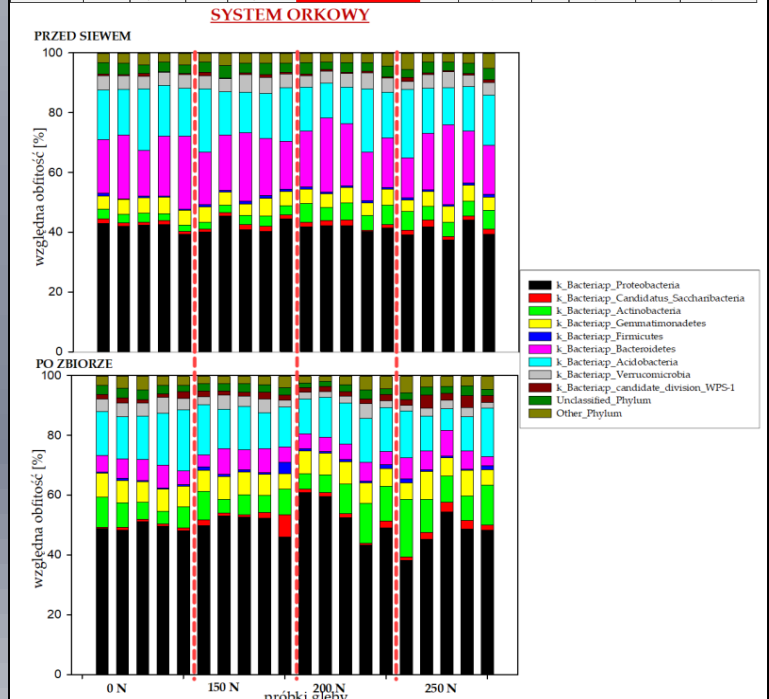
Przedmiot badań stanowiło zbadanie reakcji mikrobiomu rolniczego na 4 różne dawki azotu (N; 0, 150, 200 i 250 kg⁻¹ha⁻¹rok⁻¹) w glebie pod uprawą kukurydzy w systemie orkowym i bezorkowym. Gleba była pobierana w dwóch okresach: przed siewem kukurydzy (kwiecień 2021) oraz po jej zbiorze (listopad 2021). Całkowite DNA z gleby izolowano komercyjnym zestawem DNeasy PowerLyzer PowerSoil (QIAGEN). Izolaty DNA analizowano pod kątem czystości i ilości dsDNA (double strand DNA) z wykorzystaniem metody spektrofotometrycznej (BioSpectrometer, EPPENDORF) oraz metody fluorymetrycznej z wykorzystaniem zestawów Qubit dsDNA HS and BR Assay i Qubit (THERMO FISHER SCIENTIFIC). Izolaty DNA glebowego były również analizowane pod kątem amplifikowalności w reakcji PCR ze starterami dla bakterii (fragment genu 16S rRNA - 27F/518R) oraz dla grzybów region ITS (startery ITS1/ITS4) oraz REDTaq® ReadyMix™ PCR Reaction Mix (MERCK). Odpowiedź mikrobiomu rolniczego wyznaczono stosując technikę sekwencjonowania następnej generacji ampliconów 16S i ITS (MiSeq Illumina, Genomed, Warszawa). Otrzymano odczyty o wielkości 250 par zasad w trybie sparowanych końców z każdego izolatu. Sekwencje analizowano bioinformatycznie z wykorzystaniem pakietów DADA2 (v.1.12), DECIPHER oraz Phyloseq w środowisku programistycznym R. Klasyfikację taksonomiczną przeprowadzono z wykorzystaniem aktualnych baz referencyjnych: RDP (v.138), SILVA (v.132) oraz UNITE.

dawka N kg ⁻¹ ha ⁻¹ rok ⁻¹	Mortierellomycota	Ascomycota	Basidiomycota	Mucoromycota	Rozellomycota
0	↑ 4,694	↑ 1,582	↓ -0,142	↑ 0,952	↑ 0,732
150	↓ -2,324	↑ 4,440	↑ 4,004	↑ 0,732	↑ 0,444
200	↓ -3,698	↓ -10,082	↓ -3,268	↑ 0,906	↑ 0,444
250	↓ -14,662	↓ 7,288	↓ 2,742	↑ 0,222	↑ 0,19



Rys. 2 Zidentyfikowany mykobiom w badanych glebach uprawianych bezorkowo.

Dawka N kg ⁻¹ ha ⁻¹ rok ⁻¹	Proteobacteria	Actinobacteria	Firmicutes	Bacteroidetes	Acidobacteria	Verrucomicrobia
0	↑ 7,346	↑ 4,395	↔ 0,003	↓ -13,601	↓ -0,775	↓ -0,114
150	↑ 8,572	↑ 4,123	↑ 0,634	↓ -12,368	↓ -2,503	↓ -1,325
200	↑ 11,498	↑ 3,639	↔ 0,089	↓ -14,236	↓ -1,425	↓ -1,742
250	↑ 6,590	↑ 6,772	↔ 0,036	↓ -12,223	↓ -4,022	↓ -1,611



Rys. 2 Zidentyfikowany mikrobiom bakterii w badanych glebach uprawianych orkowo.

Odnotowano, że dynamika zmian mykobiomu w glebie uprawianej bezorkowo była istotna statystycznie istotna w obrębie kładów grzybów: Mortierellomycota, Ascomycota, Basidiomycota, Mucoromycota, odpowiednio ANOVA p=0,000; p=0,300; p=0,000; p=0,077 (Rys. 2). Wzbogacenie gleby N pod uprawą kukurydzy spowodowało zmiany struktury sieci mikrobiomu bakteryjnego. Odnotowano, wzrost względnej obfitości przy zdecydowanie obniżonej dawce azotu o 40%, co sugeruje, że zubożenie stosowania N wpłynęło korzystnie (↑) na bakterie należące do typu Firmicutes (pomimo braku statystycznego wpływu), zarówno w systemie orkowym, jak i bezorkowym. Stosowanie N w dawce 250 kg⁻¹ha⁻¹rok⁻¹ w uprawie bezorkowej kukurydzy spowodowało, że względne bogactwo sieci bakterii zostało obniżone (↓), szczególnie z typów Actinobacteria, Verrucomicrobia (ANOVA, p=0,01; Rys. 2). Powyższe zmiany sugerują, że mikrobiomy rolne w różnych niszach hodowlanych są ekologicznie interaktywne

Wnioski

1. Sieci mikrobiomu badanych gleb w obrębie dwóch ampliconów 16S rRNA i ITS zostały zmienione pod wpływem średniej (200 kg⁻¹ha⁻¹rok⁻¹) i wysokiej dawki N (250 kg⁻¹ha⁻¹rok⁻¹).
2. Najbardziej na nawożenie N zareagowały sieci grzybów (Mortierellomycota, Ascomycota, Basidiomycota, Mucoromycota, Rozellomycota) w glebie uprawianej w systemie bezorkowym.
3. W obrębie bakterii zmiany dotyczyły szczególnie typów: Actinobacteria, Firmicutes, Verrucomicrobia.