

**„Wyschnijmy i przeżyjmy razem”:  
czy anhydrobioza u niesporczaków (Tardigrada) jest modulowana przez specyficzny mikrobiom  
i zależy od bakterii, które razem z nimi przeżywają wysuszenie?**

Niesporczaki (Tardigrada), potocznie nazywane wodnymi niedźwiadkami i mierzące zaledwie od 0.01 do 1.2 mm, uznawane są za najbardziej odporne zwierzęta na Ziemi. Te kosmopolityczne, mikroskopijne organizmy, zasiedlają wszystkie ekosystemy na wszystkich kontynentach. Niesporczaki wzbudzają zainteresowanie naukowców na całym świecie, z uwagi na swoją niezwykle zdolność do kryptobiozy. Dzięki niej mogą one przetrwać bardzo niskie i bardzo wysokie temperatury (od zera absolutnego do ponad 150°C), wysokie dawki promieniowania UV i jonizującego (do 9 tys. Gy), bardzo niskie i bardzo wysokie ciśnienie atmosferyczne (nawet do 74 tys. atmosfer), czy też wystawienie na działanie próżni kosmicznej. W stanie całkowitego odwodnienia, czyli tzw. anhydrobiozy, potrafią przetrwać nawet kilkanaście lat. Pojawia się więc pytanie, co sprawia, że niesporczaki wydają się być prawie niezniszczalne? Czy te niezwykle zdolności mogą zawdzięczać swoistemu mikrobiomowi zasiedlającemu ich organizm? Jeśli tak, to które z bakterii odgrywają w tym procesie istotną rolę?

Powszechnie wiadomo, że skład mikrobiomu u różnych zwierząt zależy od wielu czynników, w tym m.in. diety, zajmowanej niszy ekologicznej czy sposobu rozmnażania. Z kolei bakterie wchodzące w skład owego mikrobiomu wpływają na różne aspekty życia swojego gospodarza, takie jak metabolizm czy inaktywacja toksyn. Szczególnie istotne funkcje dla biologii i w procesach mikroewolucyjnych swoich gospodarzy odgrywają bakterie symbiotyczne. Istnieją liczne badania skupiające się na analizie profili mikrobiomowych i identyfikacji symbiotycznych bakterii bezkręgowców lądowych, szczególnie u stawonogów (Arthropoda). Natomiast wiedza dotycząca mikrobiomu Tardigrada ogranicza się do zaledwie kilku artykułów, w których wykazano jego specyficzność gatunkową i odmienną od bakterii zasiedlających siedliska występowania badanych gatunków niesporczaków. Obecnie, narzędzia biologii molekularnej, w tym technologia sekwencjonowania metagenomowego, są na tyle rozwinięte, że mogą być używane do precyzyjnej analizy profili mikrobiomowych niesporczaków. Przeprowadzone przez nasz zespół pilotażowe badania mikrobiomu kilku gatunków Tardigrada, z wykorzystaniem nowych narzędzi bioinformatycznych, pozwoliły na dokonanie pionierskiego odkrycia endosymbiotycznej bakterii z rodzaju *Wolbachia*. Bakteria ta jest horyzontalnie i/lub wertykalnie transmitowana od rodziców do potomstwa przez zainfekowane samice i w sposób znaczący może zakłócać biologię żywiciela, głównie poprzez manipulację procesem reprodukcji.

Celem niniejszego projektu jest kompleksowa analiza mikrobiomu różnych gatunków niesporczaków, na drodze sekwencjonowania metagenomowego. U każdego z gatunków niesporczaków mikrobiom będzie badany na różnych etapach jego rozwoju tj. jaja, osobniki dorosłe (przed i po anhydrobiozie), a także osobniki w stadium anhydrobiozy. Badania będą obejmowały gatunki zasiedlające różne ekosystemy (słodkowodne, lądowe wilgotne i lądowe kserotermiczne), charakteryzujące się różną dietą (roślinożerne i drapieżne) oraz z różnymi strategiami rozrodczymi (partenogeneza, rozdzielnopłciowość). Sekwencjonowanie metagenomowe będzie obejmowało fragment V3-V4 bakteryjnego genu 16S rRNA. Otrzymane operacyjne jednostki taksonomiczne (*operational taxonomic units*; OTUs) różnych bakterii zostaną poddane analizie bioinformatycznej na podstawie dostępnych baz danych sekwencji referencyjnych. W rezultacie możliwa będzie identyfikacja bakterii specyficznych dla danego gatunku niesporczaka w konkretnym stadium rozwojowym. W ten sposób uzyskamy również dane na temat różnic w składzie mikrobiomu u gatunków odżywiających się różnymi rodzajami pokarmu, charakteryzujące się różnymi strategiami rozrodu czy zasiedlające różne mikrosiedliska. A co najważniejsze, uzyskamy odpowiedź, które bakterie występują u niesporczaków anhydrobiotycznych, a tym samym które z nich mogą odpowiadać za zdolność niesporczaków do anhydrobiozy. Aby potwierdzić rolę mikrobiomu w anhydrobiozie niesporczaków, przeprowadzimy też eksperyment, który pozwoli na analizę zmian zachodzących w mikrobiomie, a zdolnością niesporczaków do anhydrobiozy. W tym celu poprzez odpowiednio przeprowadzone hodowle eksperymentalne zamienimy mikrobiom niesporczaków posiadających zdolność do anhydrobiozy, z mikrobiomem niesporczaków, które tej zdolności nie mają. Następnie pierwotny mikrobiom będzie eksperymentalnie odtwarzany. Tym samym zbadamy, czy to właśnie bakterie wchodzące w skład mikrobiomu odpowiadają za skuteczną anhydrobiozę u niesporczaków. Dokonamy też analizy profili metabolicznych mikrobiomu i sprawdzimy, jak się zmienia, na każdym etapie prowadzonego eksperymentu.

Jeśli bakterie rzeczywiście odgrywają istotną rolę w anhydrobiozie, nasze badania będą miały charakter przełomowy w zrozumieniu zjawiska anhydrobiozy, nie tylko u niesporczaków, ale także u innych bezkręgowców, takich jak nicienie, wrotki czy niektóre skorupiaki.