

Z dużym prawdopodobieństwem można stwierdzić, że wszystkie organizmy eukariotyczne są powiązane złożoną, wielopoziomową symbiozą z mikroorganizmami, które odgrywają różne, często fundamentalne role w fizjologii gospodarza. Udowodniono, że mikrobiota odgrywa ważną rolę w ewolucji (endosymbiotyczna teoria Lynn Margulis, terestrializacja roślin) i ma istotny wpływ na ekologię ekosystemów. Mikroorganizmy symbiotyczne wywierają silny wpływ na strukturę zbiorowisk i różnorodność powiązanych organizmów. Jednym z najbardziej reprezentatywnych i najlepiej zbadanych przykładów znaczenia złożoności mikroorganizmów jest ludzki przewód pokarmowy. Szacuje się, że metagenom mikrobioty jelitowej jest 100-krotnie większy niż ludzki genom. Mikrobiota jelit pełni różne, korzystne funkcje, a jej zanik ma często poważne skutki dla zdrowia ludzkiego.

Skład i rola mikrobioty roślinnej jest znacznie mniej poznana, jednak w ostatnich latach wiedza dotycząca tego aspektu znacząco się pogłębiła. Wykazano, że mikroorganizmy symbiotyczne, głównie bakterie i grzyby, odgrywają korzystną rolę w adaptacji roślin do środowiska, jednak jego zanieczyszczenie i wpływ intensywnej gospodarki rolnej poważnie ograniczają różnorodność biologiczną mikroorganizmów symbiotycznych, wpływając negatywnie na fizjologię roślin i homeostazę ekosystemów. Pozytywny wpływ mikrobioty roślinnej na pobór wody i nutrientów przez gospodarza oraz możliwość jej wykorzystania do ochrony przed patogenami jest przedmiotem intensywnych badań. Mikrobiota roślinna może zatem znaleźć zastosowanie w fitoremediacji oraz rolnictwie, jako alternatywa dla tradycyjnych technik uprawy.

Do najlepiej opisanych grup symbiontów roślinnych należą grzyby mykoryzowe. Jednak w ostatnich latach wyodrębniono kolejną ważną grupę mikroorganizmów - endofity. Endofity (grzyby i bakterie) są wszechobecne, taksonomicznie różnorodnymi mikroorganizmami, które zasiedlają tkanki roślinne bez jakichkolwiek widocznych symptomów przez co najmniej część cyklu życiowego rośliny. Mikroorganizmy te mogą zwiększać biomasę roślin i chronić je przed niekorzystnymi warunkami środowiskowymi. Symbioza z endofitami jest szczególnie ważna dla roślin niemykoryzowych (około 29% wszystkich gatunków roślin naczyniowych), w tym roślin z rodzin *Chenopodiaceae*, *Caryophyllaceae* i *Brassicaceae*.

Według naszych wstępnych badań, siewki *Arabidopsis arenosa* z populacji nieprzystosowanej do wegetacji w warunkach skażenia metalami toksycznymi (populacja referencyjna ze środowiska niezanieczyszczonego) charakteryzowały się wyższą opornością na metale toksyczne niż siewki z populacji zasiedlającej hałdę pogórnica. Dodatkowo, zastosowanie endofitów nasion pochodzących z roślin populacji referencyjnej wykazało pozytywny wpływ na wzrost siewek. Pozwoliło to postawić hipotezę, że wzrost roślin w warunkach wysokiego skażenia metalami toksycznymi może ograniczać bioróżnorodność mikroorganizmów symbiotycznych w nasionach *A. arenosa*, co z kolei ma negatywny wpływ na wzrost i kondycję roślin. Oznacza to, że mikrobiom nasion może być odpowiedzialny za adaptację rośliny do środowiska. Powszechnie wiadomo, że endofity nasion zwiększają przeżywalność siewek oraz mają wpływ na odpowiedź rośliny na działanie czynników stresu biotycznego i abiotycznego. Mają również wpływ na pobór nutrientów. Nie wiadomo jednak, czy metale toksyczne obecne w glebie mogą prowadzić do zaniku endofitów w nasionach roślin.

W pierwszym etapie projektu planowana jest identyfikacja grzybowej i bakteryjnej mikrobioty nasion *A. arenosa*, pochodzącego z różnych siedlisk. Zapewni to lepsze zrozumienie biologii symbiozy i pozwoli zbadać związek między abiotycznymi czynnikami środowiska, różnorodnością mikroorganizmów obecnych w środowisku i potencjałem adaptacji roślin. Zastosowane zostaną klasyczne techniki oparte na izolacji kultur i metody sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Czyste kultury grzybów i bakterii zostaną skatalogowane w banku mikroorganizmów w MCB UJ. Zostanie zbadana wertykalna transmisja endofitów w kolejnych pokoleniach roślin, rosnących w środowisku wzbogaconym w metale toksyczne. Z nasion pochodzących z każdej generacji będą izolowane i identyfikowane endofity. W ten sposób odpowiemy na pytanie, czy i kiedy metale toksyczne hamują wertykalną transmisję endofitów. W następnych krokach zostaną przeprowadzone badania przesiewowe w kierunku selekcji mikroorganizmów o największym potencjale poprawy wzrostu roślin w warunkach obecności metali toksycznych w podłożu. Analiza odpowiedzi wzrostowej, analizy transkryptomicznej i jonomicznej zostaną zastosowane do oceny wpływu mikrobiomu nasion na adaptację rośliny do wzrostu w warunkach stresu metali toksycznych. W celu weryfikacji wyników analizy transkryptomicznej zostanie wykonana analiza ilościowa PCR i analiza HPLC.

Planowane badania mają charakter badań podstawowych, jednak uzyskane wyniki mogą być punktem wyjścia przyszłego projektu o charakterze aplikacyjnym.