

# Symbionty jako narzędzie pomocnicze w uprawie roślin



Informator dla hodowców roślin uprawnych i gospodarstw ekologicznych

-----  
Departament Rolnictwa i Geodezji UMWM (2016)



**Katarzyna Turnau**

Małopolskie Centrum Biotechnologii i Instytut Nauk o Środowisku UJ

**Symbionty jako narzędzie pomocnicze  
w uprawie roślin**

**Fotografie: nr 5** – Jan Kowalski; pozostałe - Katarzyna Turnau

**Ryciny:** Dmitrij Filimonov

**Opracowanie redakcyjne i korekta:** Halina Knap, Stanisław Flaga

**Wydawca:** Województwo Małopolskie

**Druk:**

**Wydanie:** I

**Nakład:** 500 egzemplarzy

© **Copyright by:** Województwo Małopolskie

**ISBN:** 978-83-64594-55-7

**Fot. na okładce:** Uprawy współrzędne i sąsiedztwo roślin (J.Pajdzik)

Publikację wydano dzięki pomocy finansowej  
Województwa Małopolskiego



## **Spis treści**

<i>Rolnictwo w obliczu zmian XXI wieku</i>	6
<i>Symbionty roślinne jako narzędzie pomocnicze w uprawie roślin</i>	8
<i>Mykoryza jako przykład symbiozy roślin</i>	10
<i>Jakie czynniki ograniczają różnorodność i efektywność grzybów mykoryzowych?</i>	20
<i>Kiedy konieczna jest inokulacja gleby grzybami arbuskularnymi ?</i>	21
<i>Jak wyprodukować własną szczepionkę?</i>	22
<i>Ekologiczne warzywa XXI wieku</i>	23
<i>Mykoryza w obliczu suszy</i>	25
<i>Najważniejsze typy symbioz tworzonych przez rośliny (poza mykoryzą)</i>	26
<i>Czy tylko endofity i mykoryza pozwalają na obniżenie chemizacji rolnictwa?</i>	30
<i>Znaczenie symbiontów na terenach zdegradowanych</i>	30
<i>Małopolska jako region aktywny w ochronie lokalnych upraw</i>	34
<i>Literatura uzupełniająca</i>	36

## Rolnictwo w obliczu zmian XXI wieku

Współczesne rolnictwo w znacznym stopniu odeszło od tradycyjnego systemu uprawy, który został wypracowany przez pokolenia rolników. Ich obserwacje pozwoliły na dopracowanie sposobów zmianowania, doboru sąsiadujących roślin (dziś nazywanych uprawami współrzędnymi), zasad nawożenia organicznego itp. Poprawność zabiegów mierzono jakością i ilością uzyskiwanych plonów. Zabezpieczenie stanowiła wysoka różnorodność upraw, a zmianowanie pozwalało na uniknięcie niekontrolowanego namnożenia patogenów specyficznych dla danej grupy, a nawet odmiany roślin.

Masowe stosowanie nawozów i środków ochrony roślin w drugiej połowie XX wieku przyczyniło się do dalszego wzrostu uzyskiwanych plonów i zysków. Zyski jednak nie zawsze idą w parze z jakością. Okazało się, że nadmiar nawozów zubaża wartości smakowe i żywieniowe produktów rolniczych, a także negatywnie wpływa na środowisko. Przewidzenie takiego efektu było trudne ze względu na niewielką znajomość interakcji pomiędzy roślinami a towarzyszącymi im mikroorganizmami, które tworzą skomplikowane układy istniejące w środowisku naturalnym. Z natury rzeczy staramy się lekceważyć to, czego nie widzimy gołym okiem. Naszą wiedzę budowaliśmy w oparciu o techniki izolacji mikroorganizmów nie zdając sobie sprawy z tego, że tylko nieliczne organizmy występujące w glebie są uwidaczniane znanymi nam technikami. Dziś nie ma już wątpliwości, że w warunkach laboratoryjnych jesteśmy w stanie hodować zaledwie 1% mikroorganizmów. Niedoskonałość takich badań stała się hamulcem, w szczególności w zakresie badań fizjologii roślin. Większość badań prowadzona była na modelach pozbawionych całkowicie mikroorganizmów. Nie poświęcano także wiele uwagi korzeniom, które traktowano jedynie jako struktury zakotwiczone roślinę w podłożu i odpowiedzialne za pobieranie wody i nutrientów. Wobec konieczności zapewnienia wzrostu produkcji żywności, przy jednoczesnym obniżeniu stosowanych dawek nawozów i spodziewanym zakazie użycia na terenie Unii Europejskiej wielu środków chemicznych ochrony roślin, konieczne jest zwiększenie naszej wiedzy o funkcjonowaniu ro-

ślin i ich zbiorowisk. Do roku 2050 spodziewany jest wzrost temperatury o około 2,5°C, co w efekcie spowoduje wzrost deficytu wody i zasolenie gleb. W znacznym stopniu utrudni to funkcjonowanie rolnictwa i spowoduje zmniejszenie różnorodności odmian roślin uprawnych.

Do roku 2050 populacja ludzka wzrośnie do ponad 9 miliardów. Jednocześnie musimy się liczyć ze zmniejszeniem obszaru gruntów rolnych, ilości wody i energii. Zmiany klimatyczne przyniosą problemy z dostępem do wody i okresowymi suszami. Stąd, jedną z najważniejszych zmian, przed którymi stoi rolnictwo Unii Europejskiej są ustawowe zapisy dotyczące pestycydów (Pesticide Safety Directive). Wiele pestycydów zostanie wycofanych zgodnie z aktualizacją dyrektywy UE 91/414 /EWG i rozporządzeniem nr 1107/2009 z 14 czerwca 2011 roku. Jak na razie dotyczy to około 12% insektycydów i herbicydów oraz około 35% środków grzybobójczych.

W tej sytuacji istnieje wyraźna potrzeba poszukiwania alternatywnych strategii ochrony roślin i określenia ich skuteczności. Staniemy także przed problemem wyczerpania nawozów i koniecznością ograniczenia zanieczyszczenia gleby. Poza niekorzystnym wpływem chemizacji rolnictwa na zdrowie ludzi i środowisko, istotny jest znaczny wzrost cen nawozów związany ze wzrostem popytu na żywność w krajach rozwijających się. Z kolei zmiany klimatyczne (zmiany atmosferyczne, dwutlenek węgla, opady i temperatura) wpłyną na wydajność niektórych upraw (Anon, 2004). Oczekuje się, że doprowadzą one do zwiększenia plonów roślin na obszarach o wystarczającej ilości wody i obniżenia plonów na obszarach z gorącym i suchym klimatem (Saeba i Mortensen 1996; Finnan et al. 2002). Na terenach dotkniętych okresem suszy w lecie spotkamy się z koniecznością wdrażania programów oszczędnościowych i reglamentacji wody do celów gospodarczych.

Przewiduje się względnie mniejsze straty plonu z powodu wczesnej dojrzałości niektórych odmian pszenicy. Z kolei ryzyko stresu cieplnego w okresie kwitnienia prawdopodobnie wzrośnie, co doprowadzi do znacznych strat w uprawach odmian pszenicy wrażliwych na wysokie temperatury i powszechnie uprawianych w Europie.

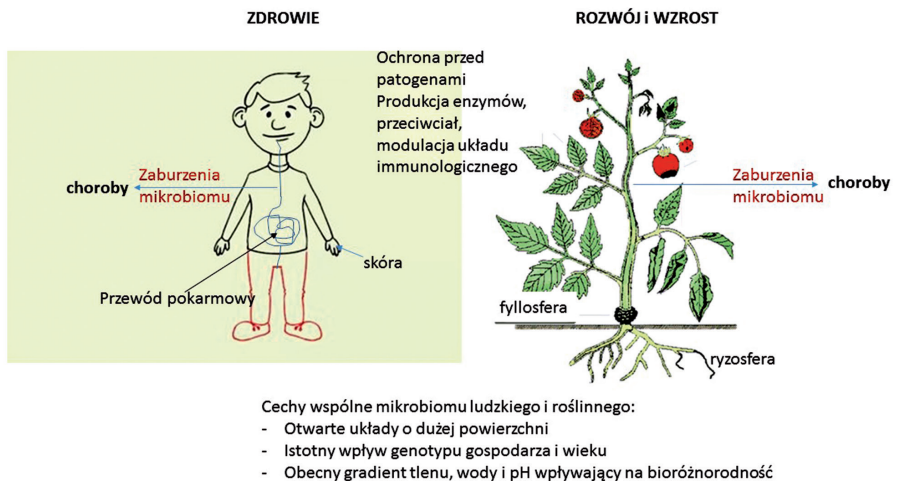
To wszystko będzie prowadzić do poszukiwania alternatywnych technologii w celu poprawy efektywności produkcji roślinnej i ochrony bezpieczeństwa żywnościowego (Anon 2004). Rolnictwo konwencjonalne zdecydowanie nie podoła tym wyzwaniom. Jego alternatywą może stać się rolnictwo zrównoważone, uwzględniające ograniczenie zużycia wody i nawozów. Można to osiągnąć korzystając mądrze z prawidłowego funkcjonowania systemów biologicznych opartych na zmniejszonej orce sprzyjającej konserwacji struktury gleby, utrzymywaniu całorocznej pokrywy roślinnej, stosowaniu zmianowania z uwzględnieniem roślin motylkowych oraz pozostawianiu na polach co najmniej 30% pozostałości z upraw. Wykorzystanie mikroorganizmów takich jak grzyby mykoryzowe i endofityczne oraz bakterie może w znacznej mierze pomóc w sprostaniu tym wymogom (Lal 1987, 2009, Jeffries i in. 2003, Munkvold i in. 2004, Oehl i in. 2005, Hector i Bagchi 2007, Hayek i in 2012, Peyret-Guzzon i in. 2015). Jednocześnie konieczne jest zadbanie o zachowanie regionalnej różnorodności upraw.

## **Symbionty roślinne jako narzędzie pomocnicze w uprawie roślin**

Ostatnie kilkanaście lat przyniosło przełom w badaniach symbiontów roślinnych. Nie ma już dziś żadnych wątpliwości, że rośliny, które dotychczas uważaliśmy za pojedyncze obiekty badań, nigdy nie występują samotnie poza laboratorium. Każda część rośliny skolonizowana jest przez mikroorganizmy obejmujące bakterie, archeony i grzyby, zbiorczo określane roślinnym mikrobiomem lub fitomikrobiomem (Fig. 1). Układ ten jest trudny do rozdzielenia i funkcjonuje jako superorganizm lub jako organizm holobiontyczny (termin zaproponowany przez Lynn Margulis w 1993 roku). Podobnie jak w przypadku zwierząt tak i u roślin mamy więc do czynienia nie z pojedynczym organizmem, ale z konsorcjum organizmów tworzących idealnie dopasowaną jedność. Jedność tę można jednak zburzyć.

Niewidoczne dla oczu mikroorganizmy wpływają na przystosowanie do warunków siedliskowych, podatność na choroby, efektywność

wzrostu i zdolność do produkcji potomstwa. Mikroorganizmy zasiedlają zarówno nadziemne jak i podziemne części roślin. Strefą największej różnorodności i obfitości mikroorganizmów jest ryzosfera, ale mikroby wnikają także do wnętrza korzeni i rozprzestrzeniają się w roślinie zarówno pomiędzy komórkami jak i często zasiedlają ich wnętrze. Jednak wewnątrz rośliny jest terenem o większej selektywności aniżeli ryzosfera. W związku z tym tylko niektóre mikroby mogą tu dotrzeć.



*Fig. 1. Porównanie mikrobiomu człowieka i rośliny; przygotowane na podstawie pracy Mendes & Raaijmakers 2015*

## Mykoryza jako przykład symbiozy roślin

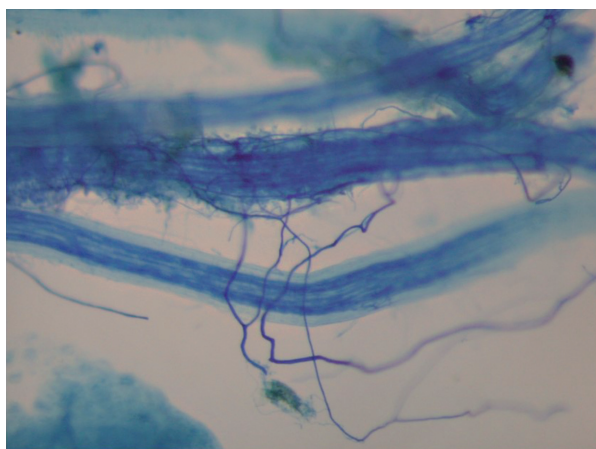
Symbioza to zjawisko współżycia organizmów różnych gatunków, której towarzyszy funkcjonalna, morfologiczna lub/i biochemiczna modyfikacja. Najbardziej powszechnym rodzajem symbiozy korzystnej dla obu partnerów jest mykoryza, która wykazuje następujące cechy wspólne:

1. Zdolność do przekazywania nutrientów i wody przez grzyby do rośliny;
2. Przekazywanie związków węgla od rośliny do grzybni;
3. Wykształcanie grzybni zewnątrzkorzeniowej w glebie, co zwiększa objętość gleby, z której korzystają rośliny.

Mykoryza jest zjawiskiem kluczowym w zapewnieniu produktywności i różnorodności zbiorowisk roślinnych i w naturalnych warunkach trudno znaleźć sytuację, gdzie mykoryza nie odgrywa istotnej roli. Utrata lub zaburzenia interakcji mykoryzowej prowadzą do degradacji zbiorowisk, utraty produktywności i braku odporności na patogeny i w konsekwencji utraty stabilności ekosystemu (Altieri 2002, Jeffries i in. 2003, Gianinazzi i in. 2010, Verbruggen i Kiers 2010, Wagg i in. 2014).

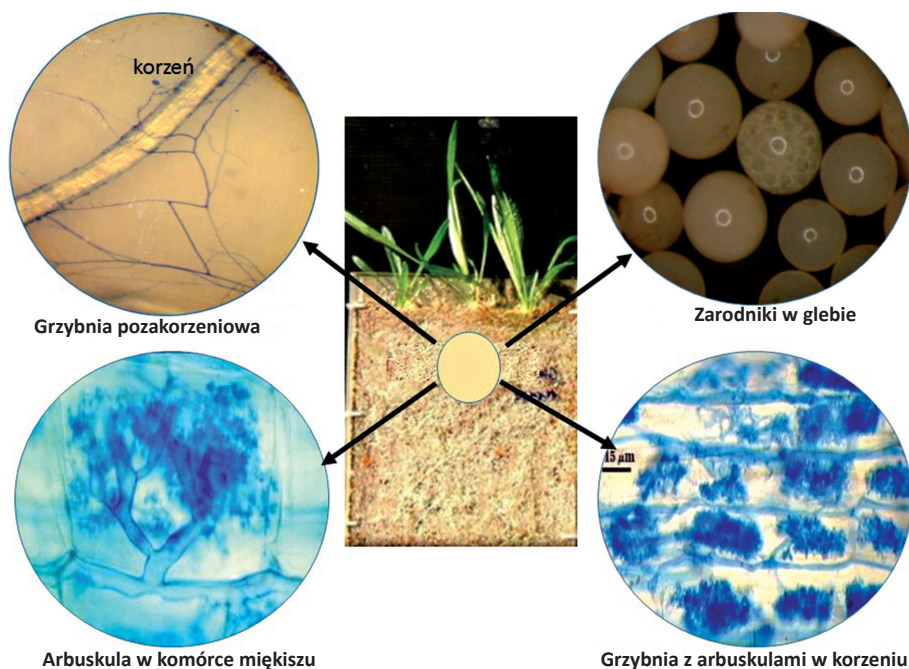
Najczęściej mykoryzę kojarzymy z symbiozą grzybów kapeluszowych i drzew leśnych. Jednak najbardziej powszechna jest mykoryza arbuskularna występująca u większości roślin zielnych naszego klimatu (w tym większość roślin uprawnych), a także u wielu gatunków drzew owocowych. W przypadku mykoryzy arbuskularnej (Fig. 2), tworzonej przez grzyby z grupy Glomeromycota (bliskiej sprężniakom) nie są wykształcane owocniki, występują jedynie zarodniki tworzone bez udziału procesu płciowego. Bez zastosowania barwienia i użycia mikroskopu nie jesteśmy w stanie stwierdzić obecności grzybów z tej grupy. Mikroskop pozwala ujawnić grzybnię rosnącą po powierzchni korzeni, wytwarzającą przyssawki na powierzchni ryzodermy lub włóśników oraz grzybnię wewnątrzkorzeniową (Avio i in. 2006). Grzybnia ta rośnie albo wewnątrzkomórkowo albo pomiędzy komórkami rośliny, wytwarzając w komórkach charakterystycznie drzewkowato rozgałęzione struktury (zwane arbuskulami) (Fig. 3) służące do wymiany substancji pomiędzy partnerami.

Zarodniki grzybów arbuskularnych wykształciły szereg przystosowań, które pozwalają im na przetrwanie okresów braku partnera roślinnego. Do nich należy możliwość wielokrotnego kiełkowania tego samego zarodnika, dzięki posiadaniu wielu jąder komórkowych. Po wytworzeniu grzybni mają jeszcze możliwość obkurczenia cytoplazmy w pewnych miejscach sieci grzybni, a następnie odcięcia się od reszty grzybni za pomocą przegród i przetrwania kolejnego okresu nie sprzyjającego rozwojowi. Pewien okres czasu grzyby te mogą także przetrwać wewnątrz martwych korzeni. Jeżeli jednak nie uda się im w okresie kolejnych kilku lat nawiązać współpracy z roślinami ich dalsze istnienie jest zagrożone. Z takimi sytuacjami mamy do czynienia, gdy (pomijając zmianowanie) co roku ponawiamy uprawę roślin niemykoryzowych takich jak rzepak. Po kilku latach prawie całkowicie tracimy symbionty a odbudowa ich różnorodności może stanowić poważne wyzwanie. Obecność grzybów arbuskularnych może zwiększać nawet 8-krotnie zawartość związków fenolowych w liściach i innych częściach roślin. Ma to związek ze smakiem i aromatem naszych zbiorów. W zamian za współpracę rośliny oddają grzybom 4-20% związków węgla uzyskanych z procesu fotosyntezy. Biorąc pod uwagę jednak znaczenie tego zjawiska nie ma wątpliwości, że symbioza jest opłacalna dla obu partnerów.



*Fig. 2. Korzenie i grzybnia zewnątrzkorzeniowa wybarwione błękitem aniliny; struktury grzybowe barwią się na ciemno niebiesko*





*Fig. 3. Struktury mikoryzy arbuskularnej*

Rośliny rosnące na ubogich glebach lub w obecności pasożytów zyskują od grzybów pomoc w pozyskiwaniu fosforu, azotu, cynku, miedzi i innych pierwiastków, które są trudno dostępne (Conradie 1988, Bolan 1991, Smith 2003, Christie i in. 2004, Neumann i George 2004, Cavagnaro i in. 2005, Cheng i Baumgartner 2004, Smith i Read 2008, Adesemoye i in. 2008, Smith i in. 2011). Bezpośrednimi efektami prawidłowego funkcjonowania symbioz mykoryzowych jest także mniejsza podatność roślin na suszę, pasożyty (Pinkerton i in. 1999, Caravaca i in. 2006, Petit i Gubler 2006, Khaosaad i in. 2007, Pozo i Azcon-Aguillar 2007, Pineda i in. 2010, Gallou i in. 2011, Hao i in. 2012), zanieczyszczenia, łatwiejsze ukorzenianie się młodych roślin (Barea i Azcon-Aguillar 1982, Cho i in. 2006, Brenot i in. 2008, Baumgartner i in. 2010). Są także efekty pośrednie takie jak zmniejszenie agresywności chwastów (Jordan

i in. 2000), stymulacja rozwoju symbioz bakteryjnych roślin motylkowych, wzrost agregacji gleby, stymulacja aktywności mikroorganizmów glebowych i inhibicja patogenów.

Grzybnia rozwijająca się w podłożu zwiększa objętość gleby, z której rośliny mogą czerpać związki mineralne. W jednym gramie gleby można znaleźć nawet do 100 m strzępek grzybni, która poza poborem pierwiastków także buduje właściwą strukturę gleby. Grzybnia wiąże drobiny gleby i tworzy właściwą jej strukturę. Produkuje hydrofobowe białka (zwane glomalina) poprawiając stabilność podłoża, obniżając tym samym erozję gleby i zwiększając retencje wody (Andrade i in. 1998, Gunatilake 2000, Balvanera i in. 2006, Caravaca i in. 2006, Rillig i Mummey 2006, Karagiannidis i in. 2007, Brenot i in. 2008, Wilson i in. 2009, Bedini i in. 2009, Rillig i in. 2014).

Włośniki mogą pobierać pierwiastki tylko z przylegającej do nich warstwy gleby grubości około 2 mm podczas, gdy grzybnia poszerza ten obszar o około 15 cm. Współpraca wymaga jednak wkładu ze strony rośliny w postaci niezbędnych dla grzybów cukrów powstałych w wyniku fotosyntezy i przekazywanych przez roślinę do grzybni. Poza bezpośrednimi związkami roślin z bakteriami ryzosfery, grzybnia także transportuje związki węgla od roślin w głąb gleby wydzielając je na powierzchni strzępek i tworząc tzw. hyfosferę. W obrębie tej strefy rozwijają się bakterie biorące udział w udostępnianiu nutrientów dla grzybni i roślin. Grzyby mykoryzowe stymulują więc rzeszę bakterii w glebie, co przekłada się na lepsze zabezpieczenie roślin w azot i fosfor. Kontakt korzeni z bakteriami w przypadku roślin motylkowych może być bardziej specyficzny i obejmuje szczepy lub gatunki bakterii specjalizujące się względem określonego gatunku a nawet odmiany rośliny. Takie rośliny pozyskują od bakterii azot wychwytywany z powietrza, ale także wydzielają go do podłoża w formie przyswajalnej dla innych roślin, co w znacznej mierze pozwala na obniżenie stosowanej dawki nawozu. Obecność bakterii brodawkowych nie wyklucza jednoczesnej kolonizacji rośliny przez grzyby mykoryzowe. Dochodzi do wytworzenia specyficznego trójkąta, w którym każdy z organizmów zaangażowanych czerpie zyski a rośliny stają się mniej zależne od nawozów azotowych i fosforowych dzięki aktywności grzybów

i bakterii. Stosowanie znacznych ilości nawozów nie jest jednoznaczne z uzyskaniem lepszej jakości plonów. Grzybnia pobiera fosfor głównie w formie jonu  $\text{HPO}_4^{2-}$ , który pochodzi z rozkładu materii organicznej. Jednocześnie grzyby mykoryzowe przeprogramowują aktywność rośliny i stymulują transportery błonowe komórek miękiszowych korzeni do pobierania fosforu od grzybni. Grzybnia mykoryzowa jest w stanie pobierać azot w formie  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  i azot organiczny. Rośliny mykoryzowe wykazują lepszy wzrost, gdy azot pochodzi z  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ . Stosowanie mocznika redukuje stopień mykoryzacji i obfitość zarodnikowania. Dobrym źródłem azotu jest materia organiczna np. w postaci pozostawionych na polu po uprawie roślin motylkowych. Nie jest do końca jasne jak znaczny jest udział bakterii w przetworzeniu materii organicznej w formę mineralną. Wiadomo, że grzyby mogą pobierać N w formie argininy.

Wspomniane wyżej interakcje pomiędzy organizmami są regulowane przy udziale związków sygnalizacyjnych i specyficznych receptorów, które odpowiadają za skład ilościowy i jakościowy mikroorganizmów. Jest to efekt ewolucji symbioz przez co najmniej kilkaset milionów lat w czasie, których konieczna była wymiana sygnałów pomiędzy zaangażowanymi partnerami tak, aby możliwa była ich koegzystencja bez naruszenia mechanizmów obronnych. Rozwijająca się roślina wytwarza związki, które wabią mikroorganizmy. W ich skład wchodzi cukry, aminokwasy, kwasy organiczne i kwasy tłuszczowe tworzące specyficzny koktajl działający jako czynniki wzrostowe stymulujące bakterie i grzybnię do wzrostu i rozgałęziania. Grzyby arbustularne w przypadku wielu upraw stymulują także wzrost roślin i zwiększają zawartość takich pierwiastków jak N, P, Ca i mikroelementów jak Cu, Zn, Fe (Johansen i in. 1992, 1996, Brun i in. 1998, Bolan 1991, Hawkins i in. 2000, Altieri 2002, Neumann i George 2004, Al-Karaki 2006, Adesmoye i in. 2008, Hodges i Fitter 2010, Hayek i in. 2012, Fellbaum i in 2012). **Wprowadzenie inokulum grzybowego może zwiększyć produkcję owoców truskawki o kilkanaście procent.** Wzrost plonów obserwuje się także w przypadku szeregu odmian pomidorów, ziemniaków, cebuli (Fig. 4, 5), pora (Fig. 6) czosnku i selera. Gdy efekt wzrostu plonu nie jest widoczny to korzyści są albo w większej zawartości fosforu albo podwyższonej odporności na

patogeny lub suszę albo w poprawie struktury gleby. Ważnym efektem jest poprawa smaku i składu uprawianych roślin, ich owoców, lub części roślin spożywanych jako warzywa. Liczne związki fenolowe występują w tkankach roślin mykoryzowych w znacznie wyższym stężeniu, co bezpośrednio przekłada się na aromatyczność i smak produktów rolnych (Chone i in. 2006). Przykładem ważnego składnika diety jest rezweratrol, który znany jest z działania przeciwrakowego i przeciw chorobie Alzheimera. Substancja ta tworzy się w roślinach w odpowiedzi na kolonizację przez grzyby, eliminując wolne rodniki będące niestabilnymi molekułami tlenu wychwytyjącymi elektrony z komórek, co z kolei powoduje podatność tych komórek na choroby i procesy starzenia. Interakcje roślin z symbiotycznymi mikroorganizmami zwiększają produkcję związków terpenowych, fenolowych i alkaloidów o działaniu antyrakowym, antymiażdżycowym, przeciwdziałającym osteoporozie i łagodzącym objawy menopauzy (Giovanetti i in. 2012). Związkom terpenowym rośliny zawdzięczają smak i zapach, działanie przeciwbakteryjne i przeciwutleniające. Zawartość tych związków zmienia się w roślinach takich jak np. bazylija. Mykoryza arbuskularna wzmacnia także gorycz roślin takich jak *Andrographis paniculata* stosowanej przy leczeniu dolegliwości układu pokarmowego i oddechowego, gorączki, chorób wirusowych i wielu innych. W ostatnich latach na terenie Polski coraz częściej uprawiana jest winorośl i wzrasta produkcja win. Warto skorzystać z nowszych doświadczeń hodowców winorośli, ponieważ od dłuższego czasu wiadomo, że jakość wina i ochrona winorośli przed szkodnikami jest w dużej mierze zależna od właściwej symbiotycznej mikrobioty (Buttrose 1966, Biricolti i in. 1997, Bavaresco i in. 2003, 2006, Cheng i Baumgartner 2004, Brenot i in. 2008, Balestrini i in. 2010, Baumgartner i in. 2010, Belew i in. 2010, Ninkov i in. 2012, Gilbert i in. 2014, Holland i in. 2014, Bokulich i in. 2014,).

Ciekawym przykładem rośliny uprawianej i silnie zależnej od grzybów mykoryzowych jest cebula. Uprawiana była na świecie od przeszło 5000 lat. W wielu krajach jest podstawowym źródłem witamin i jedynym warzywem jedzonym na surowo (np. w Peru). W ostatnich latach przedmiotem badań były także odmiany cebuli uprawiane na terenie

Polski, gdzie znano ją od wieku XIV-go (Fig. 4). Zawiera ona białka, cukry, oleje, związki mineralne, saponiny, inulinę, prowitaminę A, witaminy B1, B2, PP i C. Badania prowadzone na Uniwersytecie Jagiellońskim wykazały znacznie więcej cennych substancji w roślinach mykoryzowych. Najbogatsze w antyrakową kwercyтынę były cebule odmiany Wolska i Kuba. Części zielone cebuli zawierają tej substancji mniej, ale wciąż rośliny mykoryzowe mają jej więcej. Wymienione odmiany uprawiane w obecności grzybów mykoryzowych mają także kilkakrotnie więcej kampferolu, luteoliny i apigeniny o działaniu przeciwrakowym, antyalergicznym i antydepresyjnym. U roślin mykoryzowych większa jest także zawartość kwasów organicznych oraz witaminy B1 (Rozpądek i in. 2016). Substancje te mają istotne znaczenie w diecie i korzystne, prebiotyczne (znaczenie dla regulacji mikrobioty jelit) działanie. Uprawa cebuli ma bardzo korzystne znaczenie na mikrobiotę gleby. W sąsiedztwie jej korzeni licznie tworzą się zarodniki grzybów arbuskularnych z różnych gatunków. Nie wszystkie tworzą z cebulą efektywne pod względem transportu nutrientów związki mykoryzowe, ale mogą przygotowywać podłoże dla innych roślin. Badania wykazały, że istotny jest dobór efektywnych symbiontów. Bez dodatku właściwej szczepionki w korzeniach mogą się rozwijać grzyby mykoryzowe, których działanie bardziej przypomina pasożyty niż organizmy o działaniu korzystnym. Cebula uprawiana jest także chętnie w uprawach współrzędnych z innymi roślinami uprawnymi. Korzystne efekty obserwowane są wtedy zarówno dla roślin mykoryzowych jak i niemykoryzowych (Gianinazzi i in. 2010).

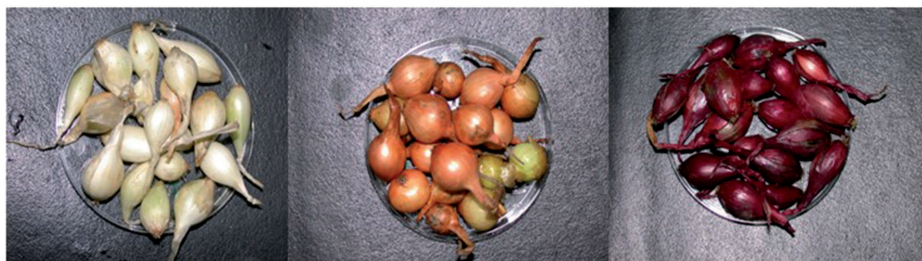


Fig. 4. Zróżnicowanie powszechnie uprawianych odmian cebuli na terenie Małopolski





*Fig. 5. Porównanie cebuli niemikoryzowej (A) z mikoryzową (B)*



*Fig. 6. Porównanie cebuli siedmiolatki niemikoryzowej (A) z mikoryzowymi (B)*

Warzywa i owoce produkowane w oparciu o uprawy naturalne (ze znacznym ograniczeniem użycia związków chemicznych) określa się mianem żywności funkcjonalnej, choć istotne tu związki w pierwszym rzędzie odgrywają rolę obronną dla roślin. Niektóre fitozwiązki jak flawonoidy czy związki fenolowe są stosunkowo dobrze zbadane. Nieco mniej wiemy o substancjach wpływających na absorpcję biogenów w przewodzie pokarmowym człowieka. Do nich należą kwasy organiczne i aminokwasy. Wśród tych substancji szczególnie ważne są kwas fumarowy, jabłkowy i cytrynowy. Zwiększają one dostępność żelaza i cynku z pokarmu. Każdy z nas ma możliwość porównania smaku pomidorów z upraw w przydomowych ogródkach i tych pochodzących z dużych supermarketów otrzymujących plony z upraw prowadzonych na podłożach pozbawionych właściwej mikrobioty i w oparciu o chemicznie skomponowaną pożywkę.

Dobrych efektów w przypadku zadbania o właściwą mikrobiotę glebową można się także spodziewać w przypadku roślinności pastwiskowej. Poprawia ona nie tylko stan gleby, ale także wpływa na poprawę hodowli bydła oraz jakości przetworów z mleka, kiszonek itp.

Kolejnym bardzo ważnym rodzajem mykoryzy jest **ektomykoryza** (Fig. 7 B-D) tworzona przez workowce i podstawczaki. Ten rodzaj symbiozy jest charakterystyczny dla większości drzew leśnych klimatu umiarkowanego. W tym przypadku znacznie łatwiej dostrzec obecność tej symbiozy, ponieważ korzenie krótkie są w takim przypadku zgrubiałe, często dychotomicznie lub wielokrotnie rozgałęzione (np. u sosny), a powierzchnię tych korzeni pokrywa tzw. mufka grzybniowa (także nazywana opilsnią). Grzybnia zewnętrzno-korzeniowa przerasta glebę (jak w poprzednich przypadkach), a z drugiej strony wnika pomiędzy komórki korytkalne korzenia, tworząc tzw. sieć Hartiga. Sieć ta jest odpowiednikiem arbuskul i zwojów opisanych w przypadku dwóch poprzednich rodzajów mykoryzy i służących jako struktury wymiany substancji pomiędzy partnerami. Współistnienie grzybów mykoryzowych i drzew leśnych jest warunkiem niezbędnym dla produktywności i zdrowotności lasu.



Trzecim ważnym rodzajem mykoryzy jest **mykoryza roślin wrzosowatych** (Fig. 7 E) takich jak borówka amerykańska lub czarna, żurawina, brusznica. Rośliny te są znane z właściwości leczniczych. W tym przypadku grzybnia wewnątrzkorzeniowa także tworzy struktury wewnątrzkomórkowe, ale w postaci zwojów. Korzenie kolonizowane przez grzyby są bardzo cienkie i nazywa się je korzeniami włosowatymi. W ich skład wchodzi wiązka przewodząca i pojedyncza warstwa komórek otaczających wiązkę. Aby je zobaczyć trzeba użyć szkła powiększającego. Grzybnia, widoczna przy zastosowaniu mikroskopu (najlepiej oglądać ją w wodzie bez barwienia), nie rośnie pomiędzy komórkami, ale po powierzchni korzenia i osobno kolonizuje od zewnątrz poszczególne komórki, tworząc charakterystyczne zwoje. Ten rodzaj mykoryzy tworzony jest głównie przez grzyby z grupy workowców. Zarówno rośliny wrzosowate jak i ich symbiotyczne grzyby wymagają gleb kwaśnych. Grzybnia ma tu zdolność tworzenia enzymów aktywnych przy rozkładzie substancji toksycznych w ryzosferze oraz materii organicznej, z której pozyskuje azot i fosfor. Funkcje grzybni glebowej są poza tym podobne do sytuacji opisanej w przypadku mykoryzy arbuskularnej i ektomykoryzy.

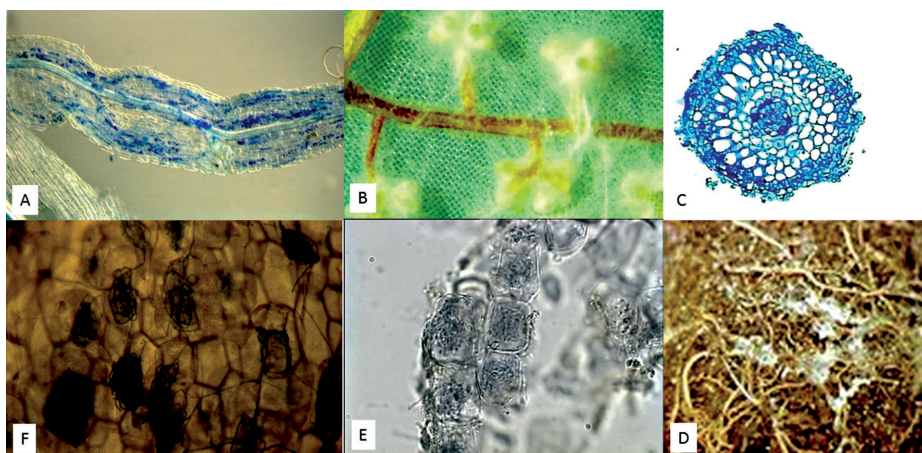


Fig. 7. Rodzaje mikoryzy: A - mykoryza arbuskularna; B-D ektomykoryza z pogrubionymi korzeniami z mufką grzybniewą (B), przekrojem przez korzeń (C) i grzybnią zewnątrzkorzeniową w ściółce leśnej (D); E - mykoryza wrzosowatych; F - mykoryza storczyków

Do ciekawych rodzajów mykoryzy należą też symbiozy storczyków (Fig. 7F) o charakterystycznych zwojach w komórkach miękkiszowych korzeni. Często grzyby tworzące ten rodzaj symbiozy stanowią połączenia pomiędzy storczykami a innymi roślinami. Istnieje znaczny potencjał praktycznego wykorzystania wiedzy w ochronie licznych na terenie Polski storczyków naziemnych.

Wymienione wyżej typy mykoryzy nie wyczerpują listy rodzajów symbioz grzybów z roślinami. Niniejszy przewodnik poświęcony jest jednak mykoryzie arbuskularnej ze względu na jej istotność w produkcji roślin uprawnych, zbóż i warzyw.

## **Jakie czynniki ograniczają różnorodność i efektywność grzybów mykoryzowych?**

Bioróżnorodność to ważny element funkcjonowania ekosystemów, chociaż najczęściej zwracamy w takich przypadkach uwagę na zbiorowiska organizmów widocznych nad powierzchnią ziemi, a tylko w nieznacznym stopniu uwzględniamy mikrobiotę gleby. Zmniejszenie różnorodności grzybów arbuskularnych pociąga za sobą spadek różnorodności zbiorowisk roślinnych, funkcjonowania roślin oraz zwiększa ich podatność na czynniki stresowe takie jak susza (Andersen i in. 1988, Deluisia i in. 1996, del Val i in. 1999, Jeffries i in. 2003, Gianinazzi i in. 2010), zanieczyszczenia (Joner i in. 2000, Gonzales-Chavez i in. 2004, de Andrade i in. 2008, Ferrol i in. 2009, Lopez-Millan i in. 2009, Meier i in. 2011, Guo i in. 2013, Cornejo i in. 2013,), zasolenie (Giri i in. 2003, 2007, Giri i Mukerij 2004, Garcia i Mendoza 2007) i pasożyty (Poza i in. 1999, Poza i Azcon-Aguilar 2007, Pinkerton i in. 1999, Petit i Gubler 2006, Farmer i in. 2007, Khaosaad i in. 2007, Hao i in. 2012, Gallou i in. 2011). Gatunki i szczepy grzybów arbuskularnych są w stanie kolonizować wszystkie gatunki i odmiany roślin użytkowych, ale efekt mykoryzacji może być różny. Poszczególne grupy tych grzybów różni kolejność tworzenia grzybni wewnątrz i na zewnątrz korzenia rośliny. Niektóre z nich potrzebują kilka miesięcy, aby wytworzyć system grzybni glebowej i dopiero wtedy rozpoczynają kolonizować korzenie i przekazywać

nutrienty do rośliny. Poszczególne szczepy różnią się obfitością grzybni w glebie co powoduje różnice w efektywności dostarczania nutrientów do rośliny oraz wiązania cząsteczek gleby i przeciwdziałaniu procesowi erozji. Z kolei stopień kolonizacji korzenia na ogół nie idzie w parze z efektami współpracy w postaci wzmożonego wzrostu rośliny czy obfitością wytwarzanych nasion. Z tych powodów spadek różnorodności grzybów arbuskularnych pociąga za sobą destabilizację funkcjonowania roślin a nawet całych ekosystemów (Sylvia i Williams 1992, van der Heijden i in. 1998, Verbruggen i Kiers 2010).

## **Kiedy konieczna jest inokulacja gleby grzybami arbuskularnymi?**

Negatywny wpływ na grzyby arbuskularne mają wysokie dawki nawozów fosforowych oraz częsta i głęboka orka. Jednak istnieje szereg zabiegów rolniczych, które są w stanie przywrócić odpowiednią liczebność propagul grzybowych. Nawet w przypadku bardzo intensywnego użytkowania gleby zawsze pozostają w niej propagule, które można namnożyć poprzez zastosowanie odpowiednich upraw, rotacji oraz gatunków tworzących mykoryzę. W niektórych przypadkach warto wprowadzać inokulum np. po stosowaniu fungicydów lub gdy z jakiś innych przyczyn gleba została silnie zdegradowana. Dostępne w handlu szczepionki grzybów mykoryzowych mogą być przydatne dla hobbystów prowadzących uprawę doniczkową lub np. na terenie niewielkich ogródków skalnych. Cena takich szczepionek jest jednak zbyt wysoka, aby stosować szczepionkę w szklarniach lub na polach uprawnych. Na dodatek szczepionki zawierają bardzo ograniczoną różnorodność mikroorganizmów i niekoniecznie obecne w niej szczepy są przystosowane do warunków glebowych lub są efektywne względem konkretnych odmian roślin a mało efektywne dla roślin przez nas uprawianych. Warto więc samodzielnie wyprodukować szczepionkę. Jest to proste i średnio wymaga około 10 minut tygodniowo. Trzeba jednak pomyśleć o tym około 4 miesiące przed przymrozkami, aby na kolejny rok szczepionka była gotowa do wprowadzenia do uprawy roślin.

## Jak wyprodukować własną szczepionkę?

Produkcja szczepionek obejmuje:

1. Przygotowanie roślin, które zostaną użyte jako przynęty i gospodarze dla grzybów; wybieramy rośliny zdolne do tworzenia tego typu związków symbiotycznych. Najlepiej rośliny o obfitym systemie korzeniowym i nie te gatunki roślin, które chcemy wprowadzać potem do uprawy. Warto użyć do tego celu np. trawę bahijską lub sorgo, czyli rośliny nie występujące powszechnie w Polsce. Jest to ważne z tego względu, że uprawa tych samych gatunków roślin może skutkować przypadkowym zwiększeniem puli pasożytów charakterystycznych dla danego taksonu rośliny. Nasiona należy skiełkować a następnie podhodować je na piasku z dodatkiem pasteryzowanej (ogrzewanie po 1 godzinie w kolejnych 3 dniach w piecyku o temperaturze około 100°C, a następnie zraszane wodą na bibule przez dwa tygodnie) gleby w stosunku 3:1.
2. Przygotowanie podłoża do namnożenia szczepionki: mieszamy kompost z perlitem, wermikulitem lub torfem w stosunku 1:4, 1:2, 1:3 lub 1:9 w zależności od żyzności podłoża; uzyskaną mieszankę wkładamy do 25-30 litrowych czarnych worków plastikowych
3. Zebranie gleby z terenu (10 cm warstwa powierzchniowa gleby), najlepiej z miejsc pomiędzy uprawami lub z ich brzegów, gdzie nawożenie na ogół nie dociera a rozwija się roślinność o większej różnorodności niż w uprawach. Kilka zebranych prób łączymy i dokładnie mieszamy, tnąc nożyczkami korzenie na drobne kawałki (korzenie są często równie dobrym źródłem grzybów arbuskularnych jak podłoże poza korzeniami). Dodajemy po 250 ml uzyskanej mieszanki do podłoża w workach i mieszamy dokładnie.
4. Wprowadzamy podrośnięte rośliny, podlewamy i plewimy. Przed przyjściem zimy ścinamy pędy nadziemne i pozostawiamy do przyszłego roku bez podlewania.
5. Na wiosnę podłoże przesypujemy do dużej skrzynki i tniemy drobne korzenie, mieszamy, usuwamy korzeń główny; można wtedy bezpo-

średnio użyć do szczepienia roślin przygotowywanych do rozsady lub wprowadzać do gruntu około łyżeczki podłoża pod roślinę.

## **Ekologiczne warzywa XXI wieku**

Produkcja warzyw metodami ekologicznymi stanowi priorytet we współczesnym świecie. Wynika to z:

- 1. Konieczności ograniczenia stosowania nawozów** mineralnych ze względu na wyczerpywanie zasobów mineralnych, zawartość takich pierwiastków jak Cd w nawozach, co prowadzi do zwiększenia stężenia Cd w warzywach, co znacznie obniża jakość warzyw takich jak sałata, konieczności przeciwdziałania eutrofizacji wód (nawozy uwalniane do wód gruntowych powodują zakwity toksycznych glonów)
- 2. Konieczności poprawy jakości gleb**, które w wyniku niekontrolowanej produkcji rolnej i stosowania nadmiernych ilości nawozów uległy degradacji pod względem różnorodności mikrobiologicznej, jakości gleb itp.
- 3. Konieczności zmniejszenia stosowanych środków ochrony roślin**, co przy braku przestrzegania zasad stosowania prowadzi do skażenia żywności pestycydami i podnosi koszty uprawy.

Obecnie na rynku obserwujemy zalew oferty nasion zagranicznych, które w wyniku selekcji w kierunku wzrostu na podłożach sztucznych i w oparciu o nawożenie mineralne pozwalały na uzyskanie wysokich plonów, ale często przy obniżeniu jakości smakowej i pro-zdrowotnej warzyw i owoców. Zapomnieniu uległo wiele odmian lokalnych, które często są trudniejsze w uprawie, ale ich walory smakowe i zawartość fitozwiązków są znacznie wyższe.

Zastosowanie mikroorganizmów symbiotycznych (grzyby mykoryzowe i endofityczne, bakterie ryzosferowe i endofityczne) przy użyciu dostępnej wiedzy z obszaru biotechnologii, hodowli roślin, mikrobiologii i ochrony środowiska pozwoli na stworzenie ekologicznej alternatywy dla tradycyjnych metod nawożenia i na wzrost konkurencyjności polskich upraw ekologicznych w Europie, w szczególności odmian warzyw,

które od wielu lat wycofywane były ze sprzedaży a kryją w sobie utraczone związki z mikroorganizmami podnoszącymi jakość warzyw. Zdolność do tworzenia symbioz jest genetycznie zapisana, a na skutek nadmiernego nawożenia ulega całkowitej lub częściowej blokadzie. W efekcie tego procesu rośliny stają się „bezbronne” i wymagają rozlicznych środków ochrony. Skutkuje to chemizacją rolnictwa. Zastosowanie mykoryz jest szczególnie zalecane w uprawach organicznych, chociaż dotychczas niewielu rolników jest świadomych możliwości i sposobu zastosowania mykoryz

**Korzyści** płynące z opracowania nowych metod uprawy odmian warzyw na terenie Polski są następujące:

1. Obniżenie kosztów nawozów o 25%
2. Możliwość minimalizacji orki przez co pozyskane będzie zwiększenie mikrobiologicznej jakości gleb
3. Obniżenie erozji gleb
4. Wzrost dostępności fosforu, cynku, miedzi i manganu w glebie
5. Wzrost walorów smakowych warzyw i owoców poprzez wzrost zawartości flawonoidów i innych fitozwiązków, a tym samym wzrost konkurencyjności upraw
6. Zmniejszenie nakładów na środki ochrony roślin
7. Zmniejszenie zużycia wody (rośliny mykoryzowe są znacznie mniej podatne na stres suszy i lepiej utrzymują wodę w tkankach)

Dotychczasowe badania prowadzone na odmianach warzyw pozwoliły na ustalenie znacznego potencjału polskich odmian cebuli. Stwierdzono istotne różnice w zawartości flawonoidów u różnych odmian tego gatunku oraz różnice w stężeniu flawonoidów w cebuli i szczypiorze. Stwierdzono, że poszczególne odmiany cebuli w różnym stopniu zależą od mikoryzy arbuskularnej (AM), przy czym odmiana „wolska” reagowała w sposób najbardziej widoczny na AM. Wykazano zmienność stopnia mykoryzacji cebuli w zależności od użytego szczepu AM oraz stadium rozwoju rośliny, przy czym rośliny rozwijające się z nasion były bardziej zależne od mykoryzy i silniej mykoryzowe niż rośliny uprawiane z dymki.

**UWAGA!!!** Zastosowanie komercyjnego inokulum mykoryzowego zalecane jest w szczególności do użytku w szklarniach. Należy pamiętać o tym, że w wielu wypadkach dobranie odpowiednich odmian roślin pozwoli na obniżenie ilości stosowanych nawozów oraz poprawę jakości, jeżeli nie ilości uzyskiwanych plonów.

## **Mykoryza w obliczu suszy**

Degradacja ekosystemów skutkuje procesami pustynnienia/stepowienia oraz zaostrzenia okresów suszy. Towarzyszy temu utrata zarówno biologicznych jak i fizyko-chemicznych funkcji gleby. Badania dotyczące mykoryzy w rejonach zagrożonych suszą prowadzone są przede wszystkim w terenach śródziemnomorskich, ale także i w Polsce coraz więcej uwagi poświęca się temu zagadnieniu. Aby zapobiec utracie plonów w wyniku suszy konieczne są programy badawcze ukierunkowane na selekcję nie tylko odmian roślin, ale także mikroorganizmów odpornych na suszę (Andersen i in. 1988, Andrade i in. 1998, van Rooyen i in. 2004, Valentine i in. 2006, Smith i in. 2010). Stworzenie szczepionek odpowiednich dla roślin w takich warunkach jest konieczne, aby do maksimum zwiększyć przeżywalność upraw. Na terenie Hiszpanii takie badania prowadzone były na przelocie (*Anthylis* sp.), który tworzy symbiozy z grzybami arbuskularnymi i bakteriami brodawkowymi (Requena i in. 1997). Przeprowadzone badania wykazały długotrwałe efekty wprowadzenia szczepionki zawierającej oba symbionty przy jednoczesnej poprawie zawartości azotu, materii organicznej w glebie oraz poprawie struktury gleby (agregacja cząsteczek gleby), co skutkuje poprawą zdolności utrzymania wody i lepszym przewietrzaniem podłoża. Wspomniane badania po raz pierwszy wykazały znaczenie inokulacji roślin w zbiorowiskach naturalnych (nie uprawnych). W Polsce sytuacja nie jest tak drastyczna, ale okresy suszy wskazują na konieczność szukania nowych rozwiązań, na przykład w odniesieniu do zbóż i innych roślin uprawnych.



## Najważniejsze typy symbioz tworzonych przez rośliny (poza mykoryzą)

Rozwijającym się w glebie roślinom towarzyszą różnorodne organizmy odgrywające pozytywne, neutralne lub negatywne znaczenie w ich rozwoju (Fig. 8).

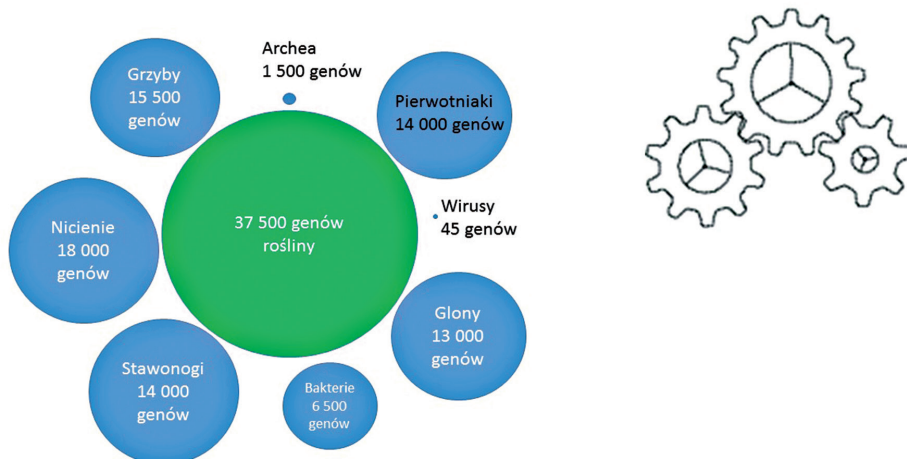


Fig. 8. Udział genów symbiontów w mikrobiomie roślinnym (Mendes, ISS 2015)

Korzystne są **symbiozy roślin motylkowych** tworzone z bakteriami brodawkowymi zdolnymi do wychwytywania azotu z atmosfery, wytworzone związki azotu przekazywane są przez bakterie do rośliny oraz do podłoża, w którym mogą być one zagospodarowane przez inne towarzyszące rośliny. Często pozostawia się też rośliny motylkowe na polu, co przynosi w kolejnym sezonie efekty w postaci zwiększonej puli nutrientów. Zalecane jest stosowanie roślin motylkowych w tzw. uprawach współrzędnych (Fig. 9).

**Endofityczne symbiozy roślin** (Fig. 10) – obejmują bakterie i grzyby z różnych grup.

Endofity definiuje się jako mikroorganizmy występujące wewnątrz tkanek roślinnych, co najmniej przez pewną część cyklu życiowego roślin i nie powodujące negatywnych skutków we wzroście i wyglądzie ro-



Fig. 9. Rozwój koniczyny po zbiorach zboża, pozwalający na uzupełnienie zasobów azotu w glebie przed kolejnym sezonem

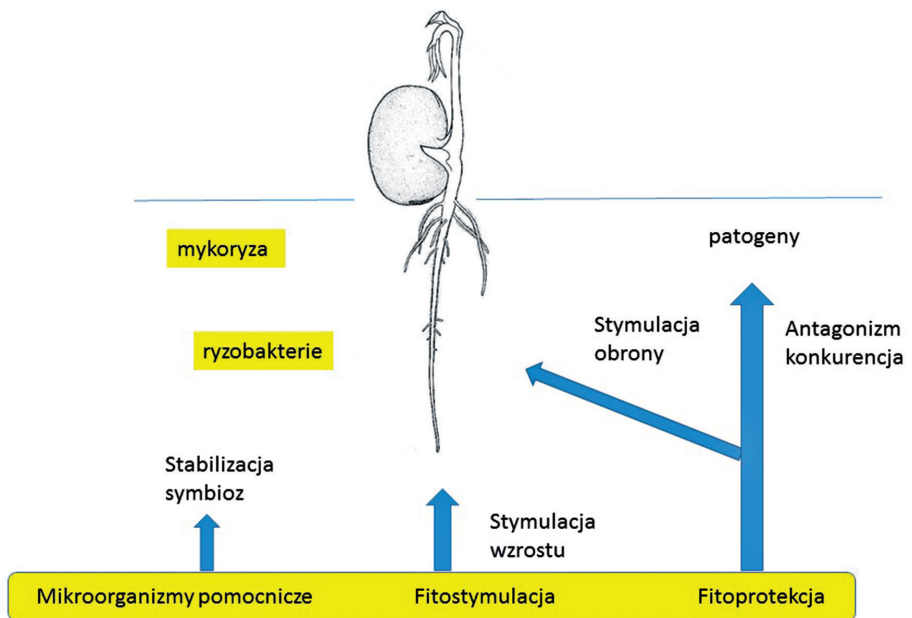


Fig. 10. Znaczenie organizmów endofitycznych we wspomaganii rozwoju i ochronie przed patogenami (Rojas, ISS 2015 zmienione)

ślin. Mikroorganizmy te występują zarówno w częściach nadziemnych jak i podziemnych, praktycznie we wszystkich tkankach, włączając w to wiązki przewodzące, często żyją w przestrzeniach międzykomórkowych. Aby udowodnić charakter endofityczny mikroorganizmów należy organizmy te wyizolować po powierzchniowej sterylizacji rośliny, wykazać, że organizm ten jest w stanie ponownie zasiedlić tkanki roślinne, nie powodując negatywnych skutków i ponownie go wyizolować. Należy także wykazać korzyści adaptacyjne powstałe w wyniku utworzenia symbiozy. Korzystne symbionty cechuje zdolność szybkiego namnażania w ryzosferze i wewnątrz roślin, zdolność do syntezy całej gamy aminokwasów, tworzenie hormonów wzrostowych, witaminy B1, sideroforów poprawiających dostępność żelaza, często tworzenie antybiotyków, obecność genów warunkujących symbiotyczność, produkcja enzymów rozkładających ściany komórkowe oraz zdolność detoksyfikacji.

W sprzedaży w krajach wiodących w produkcji bionawozów/biopestycydów znajdują się liczne szczepionki zawierające bakterie np. z rodzaju *Bacillus*. Uważane są one za bezpieczne, dobrze zbadane, zdolne do wzrostu w warunkach tlenowych, wytwarzające zarodniki (dobrze nadają się do produkcji w formie suchej), dobrze konkurujące w ryzosferze z innymi organizmami, ograniczające rozwój patogenów i redukujące choroby. Zdolność tych mikroorganizmów do ochrony rośliny przed patogenami wiąże się z ich efektywnością w konkurencji o przestrzeń i nutrieny, modyfikacją mikrobioty ryzosfery, wzrostem zaopatrzenia rośliny w nutrieny, co powoduje lepszą kondycję roślin, stymulacją ekspresji genów związanych z odpornością u roślin. Dobrze dobrane endofity poprawiają wzrost roślin w warunkach stresowych, wzmagają kiełkowanie nasion, przyspieszają dojrzewanie roślin, podwyższają plony w warunkach polowych. Na szczególną uwagę zasługują endofityczne bakterie diazotroficzne, asymilujące azot atmosferyczny. Bakterie te zwiększają stężenie chlorofilu, przewodnictwo aparatu szparkowego oraz suchą masę roślin i liczebność nasion również u innych roślin niż motylkowe. Bakterie te izolowane są z gleby lub z wnętrza roślin. Szczepionki zawierające bakterie diazotroficzne nie zastąpią w pełni stosowanych wysokich dawek nawozu azotowego, ale mogą stanowić istotny krok przy obniżeniu dawki nawozu.



*Fig. 11. Endofity traw tworzące charakterystyczne żółte zgrubienia na pędach (stadia doskonałe)*

Grzyby endofityczne nie ustępują bakteriom pod względem korzystnych efektów, są jednak znacznie mniej poznane i rzadko jeszcze wykorzystywane w praktyce. Duże zainteresowanie budzi obecnie zdolność tworzenia licznych substancji lotnych i nielotnych przez grzyby endofityczne. Niektóre z nich mają działanie przeciwrakowe. Do najlepiej poznanych endofitów grzybowych należą symbionty traw (Fig. 11), które od jakiegoś czasu coraz częściej pojawiają się na terenie Polski (Lembicz i in. 2011, Czarnołęski i in. 2012). Z jednej strony mogą poprawiać odporność roślin na czynniki stresowe natomiast jednocześnie stwarzają one zagrożenie dla zwierząt i człowieka produkując toksyczne alkaloidy. Jak się okazuje istnieje możliwość selekcji szczepów, które pozbawione są genów związanych z toksycznością. Otwiera to drogę do zastosowania tych organizmów przy wspomaganie wzrostu traw w warunkach trudnych lub na przykład do odstraszenia ptaków i innych zwierząt z terenów w pobliżu lotniska.

## Czy tylko endofity i mykoryza pozwalają na obniżenie chemizacji rolnictwa?

Ilość stosowanych związków chemicznych może być obniżona także przez szereg innych mikroorganizmów (Gianinazzi i in. 2010). Natura dostarcza cały wachlarz możliwości i tylko od pomysłowości badaczy zależy ilość możliwych rozwiązań. Coraz więcej uwagi poświęcamy owocom, które w ostatnich dziesięcioleciach traktowane były licznymi związkami grzybo- i bakteriobójczymi zabezpieczającymi je przed gniciem. Związki te stanowią zagrożenie dla konsumentów i często pozbawiają nas, jak to się dzieje w przypadku skórki pomarańczy, możliwości użycia najcenniejszych części owoców. Poza tym mikroorganizmy mają zdolność przystosowywania się do obecności substancji toksycznych i stosowane związki tracą skuteczność.

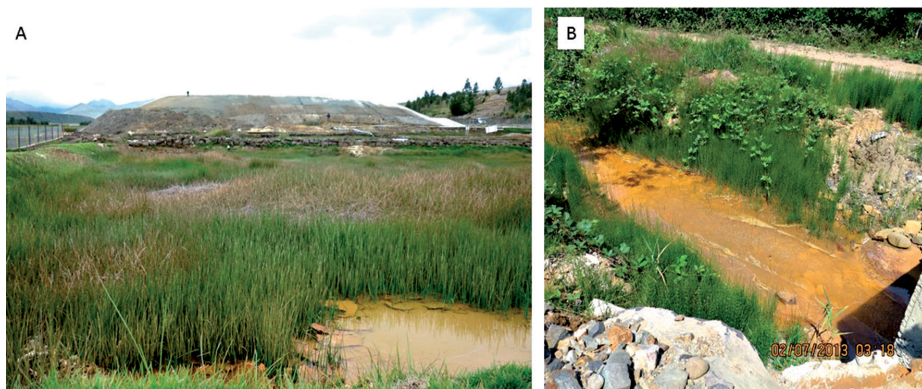
Na rynku światowym pojawiają się obecnie nowe produkty biotechnologiczne chroniące żywność przy użyciu wyselekcjonowanych mikroorganizmów, które są efektywne w ograniczaniu patogenów grzybowych takich jak szara pleśń *Botrytis cinerea* (atakująca owoce truskawki, malin, winogron i innych), patogenów bakteryjnych jak zaraza ogniowa *Erwinia amylovora* atakująca kwitnące drzewa owocowe (jabłonie, grusze). Preparaty te działają na zasadzie konkurencji o przestrzeń i nutrieny. Zawierają bezpieczne szczepy mikroorganizmów wygrywające konkurencję z patogenami. Podobne preparaty można stosować w przechowalniach owoców, dzięki czemu chroni się owoce przed grzybami z grupy *Penicillium*, *Botrytis*, *Monilia* itp. Zastosowanie takich szczepionek nie powoduje powstawania żadnych substancji ubocznych czy toksycznych, nie stanowią zagrożenia dla owadów zapylających, są bezpieczne dla ludzi i zwierząt.

## Znaczenie symbiontów na terenach zdegradowanych

Przyczyny degradacji gleb na terenie Polski mogą być różne. Do częstych należy intensywna działalność przemysłu, rozbudowa dróg i autostrad, budownictwo, motoryzacja, intensywne nawożenie gleby i stosowanie chemicznych środków ochrony roślin. Na terenie Małopolski



aktywne są zakłady pozyskujące metale ciężkie, co wiąże się z depozycją odpadów poflotacyjnych w postaci hałd widocznych w okolicach Olkusza i Chrzanowa. Odpady wciąż bogate w różnorodne potencjalnie toksyczne metale deponowane są w znacznych ilościach (Fig. 12) i stanowią zagrożenie zwłaszcza dla mieszkańców uprawiających warzywa w okolicznych ogródkach działkowych i innych terenach uprawnych, gdzie nie kontrolowany jest odczyn gleb. Szczególnie w miejscach o wartościach pH poniżej 7 metale toksyczne zawarte w pyłe pochodzącym z terenów hałd stają się łatwo dostępne dla roślin. Obecność właściwie dobranych mikroorganizmów oraz zastosowanie substancji obniżających dostępność metali może przyczynić się do poprawy jakości upraw i obniżenia stężenia metali toksycznych w roślinach (del Val i in. 1999, Joner i in. 2000, Rivera-Becerril i in. 2002, Gonzalez-Chavez i in. 2004, de Andrade i in. 2008, Ferrol i in. 2009, Guo i in. 2013, Cornejo i in. 2013).



*Fig. 12. Osadnik poflotacyjny ze strefą oczyszczania wody wypływającej z osadnika (A) oraz rów opaskowy wokół hałdy (B)*

Bezwzględną koniecznością jest zasiedlenie hałd roślinnością, która zahamuje erozję wietrzną i wodną tego terenu (Fig. 13). Kolonizacja przez rośliny tego podłoża nie jest jednak łatwa. Poza toksycznością metali, niekiedy nawet bardziej istotny jest tu niedobór wody i nutrientów oraz brak właściwej mikrobioty. Nie zdaje egzaminu pokrywanie terenu

glebą lub kompostem, ani nawożenie chemiczne i wysiewanie nasion traw, pomijając koszty związane z takimi działaniami. Aby całkowicie zlikwidować wpływ podłoża na otaczające środowisko warstwa gleby pokrywającej zwalę powinna wynosić około 4 metry. Samoistna sukcesja roślinności jest procesem bardzo wolnym i wymaga wytworzenia skomplikowanych zależności biotycznych, między innymi selekcji korzystnych symbiontów roślin, które same także powinny być wyselekcjonowane pod kątem tolerancji trudnych warunków. Na terenie hałdy Zakładów Górniczych Trzebieńka koło Chrzanowa przeprowadzono w ubiegłych latach szereg prac badawczych, które wykazały istotne znaczenie mykoryzy w procesie osiedlania się roślin na zwalówisku. Jednym z wykonanych eksperymentów było wprowadzenie ponad 20 gatunków roślin pochodzących z terenów kserotermicznych (Fig 14). Siewki tych roślin zaadaptowano do warunków hałdowych poprzez uprawę na podłożach z dodatkiem substratu poflotacyjnego oraz zaszczepiono arbuskularnymi grzybami mykoryzowymi. Większość z tych roślin przetrwała na hałdzie do czasu, kiedy poletka zlikwidowano. Na hałdy wprowadza się także sadzonki drzew szczepione grzybami ektomykoryzowymi. Dają sobie także nieźle radę, chociaż widoczna jest tu konieczność optymalizacji selekcji grzybów mykoryzowych. Na rynku dostępne są tylko nieliczne szczepy tych grzybów, a w szkótkach prowadzi się szczepienie głównie grzybami z rodzaju *Hebeloma*.



Fig. 13. *Molinia caerulea* rozwijająca się na terenie hałdy ZG Trzebieńka i przeciwdziałająca erozji.





*Fig. 14. Eksperymentale wprowadzenie roślin na teren osadnika ZG Trzebieńka; podłoże zawiera wysokie stężenia metali potencjalnie toksycznych*

Wprowadzane na tereny hałd rośliny mogą być także przydatne na terenach wokół dróg szybkiego ruchu. Na takich terenach często gleba ulega degradacji, jest podatna na erozję, a tereny wykazują monotoność, co negatywnie wpływa na osoby kierujące pojazdami i staje się nawet przyczyną wypadków. Takie tereny zdecydowanie powinny być poddane rekultywacji z użyciem szczepionek mykoryzowych.

Pełny wachlarz symbiontów jest przydatny także przy **wprowadzaniu roślinności na tereny miejskie**. Tu na szczególną uwagę zasługują drzewa i krzewy, których żywotność znacznie się obniża w wyniku działania zanieczyszczenia. Rośliny te stanowią istotny element miasta, ponieważ nie tylko przyczyniają się do oczyszczania powietrza, ale także obniżają temperaturę w okresie upałów, nawet o kilka do kilkunastu stopni. Tymczasem warunki glebowe na terenach miejskich są bardzo złe. Gleby podlegają zbiściu, zubożeniu w pierwiastki mineralne i materię organiczną, a powierzchnie wolne od asfaltu i płyt chodnikowych pozostawiane drzewom są zbyt małe. Sytuację pogarsza zasolenie gleb w wyniku odmrażania dróg i chodników w okresie zimy. Istnieją możliwości poprawy tej sytuacji związane z wykorzystaniem grzybów mykoryzowych i innych symbiontów. Do takich należy zastosowanie szczepionek za pomocą pomp wprowadzających zarówno powietrze jak i mikroorganizmy do wnętrza gleby. Taką metodą zastosowano także w Kew Garden, gdzie po huraganach utracono wiele cennych gatunków drzew. Wprowadzenie szczepionek pozwoliło na stymulację systemu korzeniowego i odtworzenie roślinności.

## **Małopolska jako region aktywny w ochronie lokalnych upraw**

Małopolska jest regionem bogatym w odmiany roślin uprawnych, których zachowanie dla kolejnych pokoleń staje się priorytetem. Przeprowadzone ostatnio badania wskazują na istotność grzybów mykoryzowych w ich uprawie. Wiele z nich, pomimo uprawy z zastosowaniem nawozów nadal wykazuje zdolność do tworzenia mykoryzy, co pozwala na przywrócenie im możliwości obrony przed chorobami i samowystarczalność w zdobywaniu nutrientów. Nie można całkowicie zrezygnować z nawożenia, ale optymalizacja dawek pozwoli na zachowanie pełnej gamy mikroorganizmów symbiotycznych. Zanim odpowiednie metody upraw zostaną zoptymalizowane znacznie pilniejszym zadaniem jest ochrona lokalnych odmian, zwłaszcza zbóż i warzyw. Odmiany te mogą wciąż zawierać pulę genów odpowiedzialnych za odporność na szkodniki zarówno grzybowe, bakteryjne jak i owady. Odmiany te są przechowywane w postaci banków nasion. Od roku 2015-go z inicjatywy Urzędu Marszałkowskiego rozpoczęto badania dotyczące zależności roślin uprawnych od obecności grzybów mykoryzowych (Ryc. 15 i 16). Wszystkie odmiany przebadanych warzyw wykazują większą biomasę oraz znacznie wyższą aktywność procesu fotosyntezy. Przebadano także wpływ mykoryzy na lokalne odmiany pszenicy. Pomimo ogólnej tendencji na świecie do utraty mykoryz, odmiany zbóż rodzimych wciąż charakteryzuje nawiązywanie symbiozy z grzybami mykoryzowymi a obecność symbiozy, słabiej doceniana w warunkach optymalnych dla wzrostu zbóż, jest widoczna w warunkach stresowych takich jak susza. Ze względu na zmiany klimatyczne spodziewane w przyszłości zjawisko to zasługuje na szczególną uwagę.

Przeprowadzone badania potwierdzają istotne znaczenie mykoryzy i innych związków mutualistycznych w funkcjonowaniu roślin w zbiorowiskach naturalnych i agroekosystemach. Symbiozy pozwalają na współwystępowanie roślin oraz pozwalają na stabilność ekosystemów. Aby właściwie wykorzystać różnorodność symbiontów w walce o poprawę jakości plonów i obniżenie użycia związków chemicznych w środowisku konieczne są dalsze, szeroko zakrojone ba-

dania naukowe prowadzone w poszczególnych regionach kraju, co pozwoli na zachowanie różnorodności odmian przystosowanych do uprawy w konkretnych warunkach.



Fig. 15. Porównanie pietruszki odmiany Berlińskiej w obecności mykoryzy i bez mykoryzy (po prawej)



Fig. 16. Porównanie marchwi odmiany Fama w obecności mykoryzy (po lewej i bez

## **Literatura uzupelniajaca:**

- Adesemoye AO, Torbert HA, Klopper JW (2008) Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. *Can J Microbiol* 54:876–886. doi:10.1139/W08-081
- Al-Karaki GN (2006) Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. *Sci Hortic-Amsterdam* 109:1–7. doi:10.1016/j.scienta.2006.02.019
- Altieri MA (2002) Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments. *Agr Ecosyst Environ* 93:1–24
- Anon 2004. Regulation (EC) No 854/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific rules for organization of official control on products of animal origin intended for human consumption. *OJEC*, L139, 30/4/2004: 206-320.
- Andersen CP, Markhart AH, Dixon RK, Sucoff EI (1988) Root hydraulic conductivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal green ash seedlings. *New Phytol* 109:465–471
- Andrade G, Mihara KL, Linderman RG, Bethlenfalvay GJ (1998) Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. *Plant Soil* 202:89–96 Augé RM (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11:3–42
- Avio L, Pellegrino E, Bonari E, Giovannetti M (2006) Functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungal isolates in relation to extraradical mycelial networks. *New Phytol* 172:347–357. doi:10.1111/j.1469-8137.2006.01839.x
- Balvanera P, Pfisterer AB, Buchmann N et al (2006) Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecol Lett* 9:1146–1156. doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00963.x
- Barea JM, Azcon-Aguilar C (1982) Production of plant growth regulating substances by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Appl Environ Microbiol* 43:810–813
- Baumgartner K, Fujiyoshi P, Smith R, Bettiga L (2010) Weed flora and dormant-season cover crops have no effects on arbuscular mycorrhizae of grapevine. *Weed Res* 50:456–466. doi:10.1111/j.1365-3180.2010.00793.x
- Bavaresco L, Pezzutto S, Fornaroli A, Ferrari F (2003) Grapevine iron chlorosis occurrence and stilbene root concentration as affected by the rootstock and arbuscular mycorrhizal infection. *Acta Horticult* 603:401–410
- Bavaresco L, Bertamini M, Iacono F (2006) Lime-induced chlorosis and physiological responses in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot blanc) leaves. *Vitis* 45:45–46
- Bedini S, Pellegrino E, Avio L et al (2009) Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. *Soil Biol Biochem* 41:1491–1496. doi:10.1016/j.soilbio.2009.04.005
- Belew D, Astatkie T, Mokashi MN et al (2010) Effects of salinity and mycorrhizal inoculation (*Glomus fasciculatum*) on growth responses of grape rootstocks (*Vitis* spp.). *South Afr J Enol Vitic* 31:82–87
- Biricolti S, Ferrini F, Rinaldelli E et al (1997) VAM fungi and soil lime content influence rootstock growth and nutrient content. *Am J Enol Vitic* 48:93–99

- Bokulich NA, Thorngate JH, Richardson PM, Mills DA (2014) Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E139–E148. doi:10.1073/pnas.1317377110/-/DCSupplemental
- Bolan NS (1991) A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant Soil* 134:189–207
- Brenot J, Quiquerez A, Petit C, Garcia J-P (2008) Erosion rates and sediment budgets in vineyards at 1-m resolution based on stock unearthing (Burgundy, France). *Geomorphology* 100:345–355. doi:10.1016/j.geomorph.2008.01.005
- Brun LA, Maillet J, Richarte J et al (1998) Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environ Pollut* 102:151–161. doi:10.1016/S0269-7491(98)00120-1
- Buttrose M (1966) Use of carbohydrate reserves during growth from cuttings of grape vine. *Aust J Biol Sci* 19:247–256
- Caravaca F, Alguacil MM, Azcón R, Roldán A (2006) Formation of stable aggregates in rhizosphere soil of *Juniperus oxycedrus*: effect of AM fungi and organic amendments. *Appl Soil Ecol* 33:30–38. doi:10.1016/j.apsoil.2005.09.001
- Cavagnaro TR, Smith FA, Smith SE, Jakobsen I (2005) Functional diversity in arbuscular mycorrhizas: exploitation of soil patches with different phosphate enrichment differs among fungal species. *Plant Cell Environ* 28:642–650
- Cheng X, Baumgartner K (2004) Arbuscular mycorrhizal fungi-mediated nitrogen transfer from vineyard cover crops to grapevines. *Biol Fertil Soils* 40:406–412. doi:10.1007/s00374-004-0797-4
- Cho K, Toler H, Lee J et al (2006) Mycorrhizal symbiosis and response of sorghum plants to combined drought and salinity stresses. *J Plant Physiol* 163:517–528. doi:10.1016/j.jplph.2005.05.003
- Christie P, Li X, Chen B (2004) Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. *Plant Soil* 261:209–217. doi:10.1023/B:PLSO.0000035542.79345.1b
- Conradie WJ (1988) Effect of soil acidity on grapevine root growth and the role of roots as a source of nutrient reserves. In: van Zyl JL (ed) *The grapevine root and its environment*. Republic of So. Africa Dept. Agri. and Water Supply, Stellenbosch. So. Africa, pp 16–29
- Cornejo P, Pérez-Tienda J, Meier S et al (2013) Copper compartmentalization in spores as a survival strategy of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments. *Soil Biol Biochem* 57:925–928. doi:10.1016/j.soilbio.2012.10.031
- Czarnoleski M., Olejniczak P., Górzynska K., Kozłowski J., Lembicz M. 2012. Altered allocation to roots and shoots in the endophyte-infected seedlings of *Puccinellia distans* (Poaceae). *Plant Biology*, doi:10.1111/j.1438-8677.2012.00633.x
- de Andrade SA, da Silveira AP, Jorge RA, de Abreu MF (2008) Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. *Int J Phytoremed* 10:1–13
- del Val C, Barea JM, Azcon-Aguilar C (1999) Assessing the tolerance to heavy metals of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from sewage sludge-contaminated soils. *Appl Soil Ecol* 11:261–269
- Deluisia A, Giandon P, Aichner M et al (1996) Copper pollution in Italian vineyard soils. *Commun Soil Sci Plant Anal* 27:1537–1548

- Farmer MJ, Li X, Feng G et al (2007) Molecular monitoring of field inoculated AMF to evaluate persistence in sweet potato crops in China. *Appl Soil Ecol* 35:599–609. doi:10.1016/j.apsoil.2006.09.012
- Fellbaum CR, Gachomo EW, Beesetty Yet al (2012) Carbon availability triggers fungal nitrogen uptake and transport in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:2666–2671. doi:10.1073/pnas.1118650109
- Ferrol N, González-Guerrero M, Valderas A et al (2009) Survival strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments. *Phytochem Rev* 8:551–559. doi:10.1007/s11101-009-9133-9
- Finnan JM, Donnelly A, Burke J, Jones MB (2002) The effects of elevated concentrations of carbon dioxide and ozone on potato yield. *Agricul Ecosystems Environ* 88:11-22
- Gallou A, Mosquera HPL, Cranenbrouck S et al (2011) Mycorrhiza induced resistance in potato plantlets challenged by *Phytophthora infestans*. *Physiol Mol Plant P* 76:20–26. doi:10.1016/j.pmpp.2011.06.005
- García IV, Mendoza RE (2007) Arbuscular mycorrhizal fungi and plant symbiosis in a saline-sodic soil. *Mycorrhiza* 17:167–174. doi:10.1007/s00572-006-0088-z
- Gianinazzi S, Gollotte A, Binet MN et al (2010) Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza* 20:519–530. doi:10.1007/s00572-010-0333-3
- Gilbert JA, van der Lelie D, Zarraonaindia I (2014) Microbial terroir for wine grapes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:5–6. doi:10.1073/pnas.1320471110
- Giovannetti M, Avio L, Barale R, Ceccarelli N et al. (2012) Nutraceutical value and safety of tomato fruits produced by mycorrhizal plants. *British Journal of Nutrition*. 107/2:242–251
- Giri B, Mukerji KG (2004) Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza* 14:307–312. doi:10.1007/s00572-003-0274-1
- Giri B, Kapoor R, Mukerji KG (2003) Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and salinity on growth, biomass, and mineral nutrition of *Acacia auriculiformis*. *Biol Fertil Soils* 38:170–175. doi:10.1007/s00374-003-0636-z
- Giri B, Kapoor R, Mukerji KG (2007) Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. *Microb Ecol* 54:753–760. doi:10.1007/s00248-007-9239-9
- González-Chávez MC, Carrillo-González R, Wright SF, Nichols KA (2004) The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environ Pollut* 130:317–323. doi:10.1016/j.envpol.2004.01.004
- Gunatilake HM (2000) Estimation of on-site cost of soil erosion: a comparison of replacement and productivity change methods. *J Soil Water Conserv* 55:197–204
- Guo W, Zhao R, Zhao W et al (2013) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) grown in rare earth elements of mine tailings. *Appl Soil Ecol* 72:85–92. doi:10.1016/j.apsoil.2013.06.001
- Hao Z, Fayolle L, van Tuinen D et al (2012) Local and systemic mycorrhiza-induced protection against the ectoparasitic nematode *Xiphinema index* involves priming of defence gene responses in grapevine. *J Exp Bot* 63:3657–3672. doi:10.1093/jxb/ers046



- Hawkins H-J, Johansen A, George E (2000) Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 226:275–285
- Hayek S, Grosch R, Gianinazzi-Pearson V, Franken P (2012) Bioprotection and alternative fertilisation of petunia using mycorrhiza in a soilless production system. *Agron Sustain Dev*. doi:10.1007/s13593-012-0083-z
- Hector A, Bagchi R (2007) Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature* 448:188–190. doi:10.1038/nature05947
- Hodge A, Fitter AH (2010) Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:13754–13759. doi:10.1073/pnas.1005874107/-/DCSupplemental
- Holland TC, Bowen P, Bogdanoff C, Hart MM (2014) How distinct are arbuscular mycorrhizal fungal communities associating with grapevines? *Biol Fertil Soils* 50:667–674
- Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S, Turnau K. et al (2003) The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol Fertil Soils* 37:1–16. doi:10.1007/s00374-002-0546-5
- Johansen A, Jakobsen I, Jensen ES (1992) Hyphal transport of <sup>15</sup>N-labelled nitrogen by a vesicular—arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. *New Phytol* 122:281–288
- Johansen A, Finlay RD, Olsson PA (1996) Nitrogen metabolism of external hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytol* 133:705–712
- Joner EJ, Briones R, Leyval C (2000) Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant Soil* 226:227–234
- Jordan N, Zhang J, Huerd S (2000) Arbuscular-mycorrhizal fungi: potential roles in weed management. *Weed Res* 40:397–410
- Karagiannidis N, Nikolaou N, Ipsilantis I, Zioziou E (2007) Effects of different N fertilizers on the activity of *Glomus mosseae* and on grapevine nutrition and berry composition. *Mycorrhiza* 18:43–50. doi:10.1007/s00572-007-0153-2
- Khaosaad T, García-Garrido JM, Steinkellner S, Vierheilig H (2007) Take-all disease is systemically reduced in roots of mycorrhizal barley plants. *Soil Biol Biochem* 39:727–734. doi:10.1016/j.soilbio.2006.09.014
- Lal R (1987) Effects of soil erosion on crop productivity. *CRC Crit Rev Plant Sci* 5:303–367
- Lal R (2009) Soil degradation as a reason for inadequate human nutrition. *Food Secure* 1:45–57
- Lembicz M, Górzynska K, Olejniczak P, Leuchtman A (2011) Geographical distribution and effects of choke disease caused by *Epichloë typhina* in populations of the grass *Puccinellia distans* in Poland. *Sydowia* 63: 35-48
- Lopez-Millan AF, Sagardoy R, Solanas Met al (2009) Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in hydroponics. *Environ Exp Bot* 65:376–385. doi:10.1016/j.envexpbot.2008.11.010
- Meier S, Azcón R, Cartes P et al (2011) Alleviation of Cu toxicity in *Oenothera picensis* by copper-adapted arbuscular mycorrhizal fungi and treated agro waste residue. *Appl Soil Ecol* 48:117–124. doi:10.1016/j.apsoil.2011.04.005
- Mendes , Raaijmakers JM (2015) Cross-kingdom similarities in microbiome functions. *The ISME Journal*: 1–3.



- Munkvold L, Kjølter R, Vestberg M et al (2004) High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 164:357–364. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01169.x
- Neumann E, George E (2004) Colonisation with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) enhanced phosphorus uptake from dry soil in *Sorghum bicolor* (L.). *Plant Soil* 261:245–255
- Ninkov J, Paprić Đ, Sekulić P et al (2012) Copper content of vineyard soils at Sremski Karlovci (Vojvodina Province, Serbia) as affected by the use of copper-based fungicides. *Int J Environ An Chem* 92:592–600. doi:10.1080/03067310903428743
- Oehl F, Sieverding E, Ineichen K et al (2005) Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. *New Phytol* 165:273–283. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01235.x
- Petit E, Gubler WD (2006) Influence of *Glomus intraradices* on black foot disease caused by *Cylindrocarpum macrodidymum* on *Vitis Rupestris* under controlled conditions. *Plant Dis* 90:1481–1484. doi:10.1094/PD-90-1481
- Peyret-Guzzon M, Stockinger H, Bouffaud ML, et al (2015) Arbuscular mycorrhizal fungal communities and *Rhizophagus irregularis* populations shift in response to short-term ploughing and fertilisation in a buffer strip. *Mycorrhiza* 1–14. doi: 10.1007/s00572-015-0644-5
- Pineda A, Zheng S-J, van Loon JJA et al (2010) Helping plants to deal with insects: the role of beneficial soil-borne microbes. *Trends Plant Sci* 15:507–514. doi:10.1016/j.tplants.2010.05.007
- Pinkerton JN, Forge TA, Ivors KL, Ingham RE (1999) Plant-parasitic nematodes associated with grapevines, *Vitis vinifera*, in Oregon vineyards. *J Nematol* 31:624–634
- Pozo MJ, Azcon-Aguilar C (2007) Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Curr Opin Plant Biol* 10:393–398. doi:10.1016/j.pbi.2007.05.004
- Pozo MJ, Azcon-Aguilar C, Dumas-Gaudot E, Barea JM (1999)  $\beta$ -1,3-Glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. *Plant Sci* 141:149–157
- Requena N, Jimenez I, Toro M, Barea JM (1997) Interactions between plant-growth promoting rhizobacteria, arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. In the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation. *New Phytol* 136: 667–677
- Rillig MC, Mummey DL (2006) Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol* 171:41–53. doi:10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x
- Rillig MC, Aguilar-Trigueros CA, Bergmann J et al (2014) Plant root and mycorrhizal fungal traits for understanding soil aggregation. *New Phytol* 205(4):1385–1388. doi:10.1111/nph.13045
- Rivera-Becerril F, Calantzis C, Turnau K et al (2002) Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular in three *Pisum sativum* L. genotypes. *J Exp Bot* 53:1177–1185
- Rozpądek P, Rapała-Kozik M, Węzowicz K, Grandin A, Karlsson S, Ważny R, Anielska T, Turnau K (2016) Arbuscular mycorrhiza improves yield and nutritional properties of onion (*Allium cepa*). *Plant Physiol Biochem*. 107:264–272. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.06.006.

- Saeba A, Mortensen L (1996) Growth, morphology and yield of wheat, barley and oats grown at alleviated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration in a cool, maritime climate. *Agricul Ecosystems Environ.* 57/1: 9-15
- Smith SE (2003) Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiol* 133:16–20. doi:10.1104/pp. 103.024380
- Smith SE, Read DJ (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*, Third Edition, 3rd edn. Academic Press
- Smith SE, Facelli E, Pope S, Andrew Smith F (2010) Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. *Plant Soil* 326:3–20. doi:10.1007/s11104-009-9981-5
- Smith SE, Jakobsen I, Grønlund M, Smith FA (2011) Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiol* 156:1050–1057. doi:10.1104/pp. 111.174581
- Sylvia DM, Williams SE (1992) Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress. *ASA special Publication* 54:101–124
- Valentine AJ, Mortimer PE, Lintnaar M, Borgo R (2006) Drought responses of arbuscular mycorrhizal grapevines. *Symbiosis* 41:127–133
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M et al (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396:69–72
- van Rooyen M, Valentine A, Archer E (2004) Arbuscular mycorrhizal colonisation modifies the water relations of young transplanted grapevines (*Vitis*). *South Afr J Enol Vitic* 25:37–42
- Verbruggen E, Kiers TE (2010) Evolutionary ecology of mycorrhizal functional diversity in agricultural systems. *Evol Appl* 3:547–560. doi:10.1111/j.1752-4571.2010.00145.x
- Wagg C, Bender SF, Widmer F, van der Heijden MGA (2014) Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:5266–5270. doi:10.1073/pnas.1320054111
- Wilson GWT, Rice CW, Rillig MC et al (2009) Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecol Lett* 12:452–461





