

## OFERTA WDROŻENIOWA

### Usługa analizy mikrobiologicznej składu ilościowego i jakościowego grzybów mykoryzowych w glebie

**Słowa kluczowe:** arbuskularne grzyby mykoryzowe (AGM), zarodniki, liczebność, bioróżnorodność.

#### Opis wdrożenia

Rośliny pozostające w symbiozie z grzybami mykoryzowymi charakteryzują się lepszym wzrostem, w porównaniu do roślin niemykoryzowanych. Zawdzięczają to między innymi lepszemu zaopatrzeniu w wodę i składniki mineralne (głównie P, N, K, Mg i mikroelementy) pobierane z gleby i dostarczane przez rozbudowaną grzybnię partnera grzybowego. Grzyby mykoryzowe zwiększają odporność roślin na czynniki stresowe, zarówno abiotyczne takie jak susza, zasolenie, skażenie metalami ciężkimi jak i biotyczne, takie jak mikroorganizmy patogeniczne i niektóre szkodniki atakujące korzenie. Z powodu korzystnych interakcji grzybów mykoryzowych z roślinami inokulacja mykoryzowa jest coraz częściej i na szeroką skalę wdrażana do praktyki ogrodniczej i rolniczej. Mykoryzacja znajduje zastosowanie w uprawach ekologicznych i w produkcji integrowanej oraz w rekultywacji terenów zdegradowanych.

W zależności od charakteru upraw wykorzystywane są różne gatunki i grupy grzybów mykoryzowych. W większości upraw sadowniczych i warzywniczych najczęściej stosowane są grzyby tworzące mykoryzy arbuskularne, należące do gromady *Glomeromycota*, których struktury identyfikowane są metodami klasycznymi, a także molekularnymi. W korzeniach zasiedlonych przez grzyby arbuskularne można zaobserwować niepodzielone strzępki grzybów, wewnętrzne pęcherzyki zwane wezykulami (ang. vesicles), formowane wewnątrz korzeni zarodniki - chlamydospory

oraz charakterystyczne dla tego typu mikoryz rozgałęzione struktury zwane arbuskulami (ang. arbuscules). Inokulacja tymi grzybami zwiększa frekwencje mykoryzową w korzeniach, stymuluje wytwarzanie chlamydospor oraz poprawia cechy wzrostu korzeni inokulowanych roślin oraz plonowanie roślin.

#### **Analiza składu ilościowego i jakościowego grzybów mykoryzowych:**

Z pobranych prób gleby ryzosferowej odważa się do dalszych analiz po 100g gleby. Następnie umieszcza je w pojemnikach i dopełnia do 1 L wodą destylowaną. Przygotowane w ten sposób próby wytrząsa się przez ok. 1h i umieszcza w lodówce (na okres 24h, w temperaturze 4°C). Po upływie 24h roztwór glebowy przesącza się przez kolumnę sit (kolejno: 0.5 mm, 0.125 mm, 0.063 mm i 0.045 mm) a następnie pozostałe na kolejnych sitach frakcje gleby, spłukuje się na szalkę Petriego (120mm) wodą destylowaną i dodaje sacharozę (5g na szalkę). Przygotowane próbki przegląda się przy użyciu mikroskopu stereoskopowego Nikon SMZ 800, a obecne zarodniki grzybów mykoryzowych pobiera się za pomocą pipety automatycznej i liczy określając wielkość ich populacji w roztworze glebowym. Zarodniki rozdziela się na morfotypy i przenosi do próbki Eppendorfa w celu oznaczenia do rodziny/rodzaju/gatunku grzybów metodami molekularnymi. Identyfikacja arbuskularnych grzybów mykoryzowych jest wykonywana przy zastosowaniu techniki PCR-DGGE w oparciu o analizę małej podjednostki genu



rybosomalnego 18S rDNA. Produkty zagnieżdżonego PCR są rozdzielane w 8% żelu poliakrylamidowym w gradiencie chemicznym 35% - 55%. Fragmenty DNA uzyskane techniką PCR-DGGE są sekwencjonowane, a uzyskane sekwencje porównane z danymi zgromadzonymi w bazie NCBI (National Center for Biotechnology Information, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). W oparciu o uzyskane sekwencje oraz sekwencje typowe dla gatunków AGM przeprowadzana jest analiza filogenetyczna z użyciem oprogramowania MEGAX (Molecular Evolutionary Genetics Analysis). Analizę

filogenetyczną przeprowadza się z zastosowaniem algorytmu 'Maximum Likelihood tree', a wiarygodność poszczególnych rozgałęzień na dendrogramie jest określona metodą 'bootstrap', opartą na 1000 powtórzeń. Identyfikację arbuskularnych grzybów mykoryzowych prowadzi się w oparciu o analizę podobieństwa uzyskanych sekwencji z sekwencjami zgromadzonymi w bazie NCBI oraz w oparciu i analizę filogenetyczną.

## Innowacyjność wdrożeniowa – efekty gospodarcze i społeczne

Innowacyjność metody polega na wyizolowaniu z gleby zarodników AGM (chlamydospor), podzieleniu zarodników na morfotypy i oznaczeniu ich za pomocą metod molekularnych. Takie usługi nie były dotychczas prowadzone w Polsce. Zarodniki występujące w glebie po pewnym czasie zasiedlają korzenie roślin, grzybnia wnika do komórek partnera roślinnego. Wysoka liczebność zarodników świadczy o dużym potencjale mykoryzogennej gleby. Mykoryzacja roślin wpływa na poprawę ich stanu odżywienia oraz wzrostu wegetatywnego i plonowania. Zastosowanie inokulacji upraw zarodnikami AGM wpływa korzystnie na ochronę środowiska naturalnego i poprawę dochodowości gospodarstw ogrodniczych. Dzięki korzystnemu wpływowi mykoryzacji roślin na wzrost i plonowanie roślin oraz braku destrukcyjnego wpływu na środowisko możliwe jest ich powszechne stosowanie w organicznej, integrowanej i konwencjonalnej uprawie roślin ogrodniczych i rolniczych.

## Podmioty, do których skierowana jest oferta wdrożeniowa

Gospodarstwa ogrodnicze i rolnicze, Ośrodki Doradztwa Rolniczego, jednostki wykonujące badania rejestracyjne substratów mykoryzowych.

<b>Twórcy oferty wdrożeniowej:</b> Zakład Mikrobiologii i Ryzosfery	<b>Autor:</b> Lidia Sas-Paszt, Prof. dr hab. Tel. 46 8345235, <a href="mailto:lidia.sas@inhort.pl">lidia.sas@inhort.pl</a> <b>Współautorzy:</b> Beata Sumorok, dr Tel. 46 8345321, <a href="mailto:beata.sumorok@inhort.pl">beata.sumorok@inhort.pl</a> Anna Lisek, dr Tel. 46 8345221, <a href="mailto:anna.lisek@inhort.pl">anna.lisek@inhort.pl</a> Derkowska Edyta, mgr inż. Tel. 46 8345456, <a href="mailto:edyta.derkowska@inhort.pl">edyta.derkowska@inhort.pl</a> Sławomir Głuszek, mgr Tel. 46 8345321, <a href="mailto:slawomir.gluszek@inhort.pl">slawomir.gluszek@inhort.pl</a> Paweł Trzciniński, mgr Tel. 46 8345212, <a href="mailto:pawel.trzcinski@inhort.pl">pawel.trzcinski@inhort.pl</a> Krzysztof Górnik, dr inż. Tel. 46 8345456, <a href="mailto:Krzysztof.gornik@inhort.pl">Krzysztof.gornik@inhort.pl</a>
--	--

