

Streszczenie

Arbuskularne grzyby mikoryzowe (AMF – ang. arbuscular mycorrhizal fungi) są obligatoryjnymi symbiontami większości znanych gatunków roślin. W zamian za węgiel asymilowany w procesie fotosyntezy, dostarczają roślinom składników mineralnych, wspomagając ich wzrost i przeżywalność, również pod wpływem stresu. Pozytywnym wpływem AMF na rośliny zainteresowano się w badaniach nad wspomaganiami fitoremediacji gleb zanieczyszczonych węglowodorami, wykazując synergistyczne działanie pomiędzy AMF, gospodarzem roślinnym i bakteriami degradującymi węglowodory.

Celem pracy była charakterystyka bioróżnorodności i rozwoju AMF w korzeniach i glebie okołokorzeniowej *Ph. australis* i *P. trivialis* rosnących w środowisku zanieczyszczonym fenolem i wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (PAH) oraz w środowisku niezanieczyszczonym, ocena biomasy pozostałych grup mikroorganizmów glebowych, a także zbadanie potencjału AMF wyizolowanych z zanieczyszczanego terenu we wspomaganii wzrostu *Lolium perenne* w warunkach skażenia fenolem i PAH.

Ocenę rozwoju AMF w badanych środowiskach oparto na określeniu kolonizacji mikoryzowej korzeni, liczbie kopii genu SSU rDNA w korzeniach, długości mycelium zewnątrzkorzeniowego, ilości wytworzonych spor oraz na stężeniach białek spokrewnionych z glomalinami i kwasu tłuszczowego 16:1 ω 5c w glebie. Biomasy głównych grup mikroorganizmów glebowych oszacowano na podstawie zawartości markerowych fosfolipidowych kwasów tłuszczowych w glebie. Charakterystykę bioróżnorodności społeczności AMF oparto na profilach DGGE (ang. denaturing gradient gel electrophoresis) genu SSU rDNA oraz na sekwencjonowaniu nowej generacji bibliotek metagenomowych genu LSU rDNA. Izolację AMF ze środowiska przeprowadzono metodą kultur pułapkowych, identyfikując wyizolowane szczepy do gatunku na podstawie sekwencji genów SSU rDNA – ITS – LSU rDNA. Wyizolowane ze środowiska zanieczyszczanego AMF, *Funneliformis caledonium*, *Claroideoglossum walkeri* i *Diversispora varaderana*, wprowadzono jako jednogatunkowe lub wielogatunkowe inokula do podłoża skażonego mieszkanką fenolu i PAH w stężeniach: 0/0, 5/20, 15/60, 30/120 mg fenolu/PAH kg⁻¹, które obsadzono życią trwałą. Rozwój mikoryzy w założonych układach badawczych oceniono na podstawie kolonizacji mikoryzowej korzeni oraz ilości Bioróżnorodność i rozwój grzybów... spor w podłożu. W wyizolowanych sporach AMF zbadano poziom stresu oksydacyjnego i aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Wpływ AMF na wzrost roślin oszacowano, analizując wysokość pędów oraz biomasy pędów i korzeni *Lolium perenne*, a także poziom stresu oksydacyjnego i aktywności enzymów antyoksydacyjnych w tkankach roślin.

Zanieczyszczenie gleby fenolem i PAH miało negatywny wpływ na kolonizację korzeni roślin, biomasy AMF w glebie oraz bioróżnorodność społeczności AMF, szczególnie tych związanych z *Ph. australis*. Nie wykazano istotnych różnic w bioróżnorodności i strukturze społeczności AMF pomiędzy glebą i korzeniami. Głównym czynnikiem kształtującym strukturę gatunkową społeczności AMF było zanieczyszczenie gleby. Gatunek gospodarza roślinnego wpływał istotnie na strukturę gatunkową społeczności AMF jedynie na terenie niezanieczyszczonym. W obu środowiskach stwierdzono silną dominację AMF z rodziny *Paraglomeraceae*. Poza tym, społeczności AMF na terenie zanieczyszczonym były zdominowane przez AMF z rodzajów *Funneliformis*, *Rhizophagus* i *Claroideoglossum*, uważanych za organizmy ruderalne i tolerujące stres. Poza rodziną *Paraglomeraceae*, w społecznościach AMF na terenie niezanieczyszczonym dominowały grzyby z rodziny *Archaeosporaceae* i rzadziej identyfikowane AMF z rodziny *Glomeraceae*, jak np. *Dominikia* sp., obecne w środowiskach niezdominowanych przez AMF ruderalne.

Zanieczyszczenie gleby fenolem i PAH nie miało istotnego wpływu na ogólną biomasy mikroorganizmów glebowych. Biomasa badanych grup mikroorganizmów zależała od interakcji pomiędzy glebą z badanego terenu a gatunkiem rośliny. W glebie okołokorzeniowej *P. trivialis* nie znaleziono różnic w biomasy grzybów saprofitycznych i głównych grup bakterii pomiędzy badanymi terenami. Natomiast, gleba wokół korzeni *Ph. australis* na terenie zanieczyszczonym charakteryzowała się większą biomasy bakterii Gram-dodatnich, promieniowców i grzybów

saprofitycznych, w porównaniu do gleby niezanieczyszczonej. Promieniowce, poza fenolem i PAH, mogły być kolejnym czynnikiem wpływającym supresyjnie na rozwój AMF, ponieważ stwierdzono negatywną korelację pomiędzy ich biomasą a biomasą AMF w glebie.

W kulturach pułapkowych wyizolowano gatunki AMF, które poza *Dominikia* sp., nie były gatunkami dominującymi w badanych społecznościach. Spory w warunkach laboratoryjnych zostały wytworzone przez gatunki AMF, których udział w badanych społecznościach był marginalny. *Funneliformis caledonium*, *Diversispora varaderoana* i *Claroideoglossum walkeri* wyizolowane z terenu zanieczyszczonego, zastosowano jako Bioróżnorodność i rozwój grzybów

inokula w badaniach nad wpływem fenolu i PAH na rozwój AMF i *L. perenne*. Rośliny zaszczone jednogatunkowym inokulum mikoryzowym charakteryzowały się lepszym wzrostem i biomasa, bez względu na poziom zanieczyszczenia, w porównaniu do roślin zaszczone inokulum wielogatunkowym, gdzie obserwowano pasożytniczą interakcję pomiędzy *L. perenne* i *C. walkeri*. Pomimo pozytywnego wpływu na wzrost roślin, inokulacja AMF nie przyczyniła się do podwyższenia aktywności enzymów antyoksydacyjnych i obniżenia poziomu stresu oksydacyjnego w tkankach roślinnych. Pod wpływem niskiego i średniego poziomu skażenia obserwowano alokację biomasy AMF do mycelium wewnątrzkorzeniowego. Wyższe stężenie fenolu i PAH miało negatywny wpływ na kolonizację mikoryzową korzeni, liczbę spor i poziom stresu oksydacyjnego w sporach AMF. Przedstawiona praca daje podstawę do dalszych badań aplikacyjnych nad zastosowaniem natywnych szczepów AMF i współpracujących z nimi mikroorganizmów we wspomaganie fitoremediacji gleb zanieczyszczonych toksycznymi związkami organicznymi.