

Co jest czym w gromadzie Glomeromycota?

Arbuskularne grzyby mikoryzowe (AGM) z gromady Glomeromycota tworzą symbiozę z ca. 70% naczyniowych roślin lądowych. Symbioza ta jest obiektem dużego zainteresowania biologów i ekologów, ponieważ AGM m.in. (i) regulują obieg węgla, azotu i fosforu, (ii) wpływają na strukturę gleby i produktywność oraz różnorodność roślin oraz (iii) zwiększają tolerancję roślin na metale ciężkie, stresy wodne i patogeniczne grzyby oraz nicienie. Trafne zidentyfikowanie i zaklasyfikowanie AGM jest niezbędne dla opisanie i zrozumienia filogenetycznej oraz funkcjonalnej różnorodności, która wpływa na produktywność zbiorowisk roślin i AGM. Jednak identyfikowanie AGM jest trudne, ponieważ morfologia ich zarodników jest mało zróżnicowana. Z tych powodów wiele gatunków AGM zostało błędnie umiejscowionych wewnątrz Glomeromycota. Filogenezy zrekonstruowane z analiz sekwencji regionu SSU-ITS-LSU nrDNA i genów *RPB1* oraz *hsp60*, których siła rozdzielczości pozwala rozróżnić nawet najbliższe spokrewnione gatunki, pozostają nieznane u ca. odpowiednio 50%, 75% i 93% opisanych gatunków. Żaden z nazwanych gatunków AGM nie został scharakteryzowany na podstawie sekwencji obejmujących SSU-ITS-LSU plus *RPB1* plus *hsp60*. Ostatnio opublikowane dane literaturowe i nasze obserwacje również wskazują, że Glomeromycota zawiera niezdefiniowane gatunki, które są morfologicznie prawie identyczne jak opisane taksony, ale różnią się istotnie pod względem molekularnej filogenezy. W końcu filogeneza wielu gatunków pozostaje nieznana i transfer niektórych innych gatunków do nowych rodzajów nie został zaakceptowany lub budzi wątpliwości. AGM, które są obciążone takimi problemami są m.in. gatunki oryginalnie opisane jako *Acaulospora capsicula*, *A. gedanensis*, *A. polonica*, *A. thomii*, *Archaeospora trappei*, *Entrophospora infrequens*, *Glomus constrictum*, *G. drummondii*, *G. majewskii*, *G. przelewicensis*, *G. pustulatum*, *G. walkeri* i *Gigaspora gregaria*.

Ponadto w żywej kolekcji AGM utrzymywanej przez promotora kierownika projektu jest wiele gatunków nieopisanych, jak również gatunków, których opisy morfologiczne są niekompletne i filogenetyczne stanowiska molekularne w Glomeromycota oraz naturalne pokrewieństwa z innymi przedstawicielami tej gromady są nieznane lub niepewne. Dlatego celem projektu jest (1) zweryfikowanie i, w razie potrzeby, skorygowanie lub opisanie na nowo cech morfologicznych, molekularnych i filogenetycznych co najmniej 10 gatunków AGM dominujących w wydmach nadmorskich Polski i innych regionów Europy na podstawie (i) analiz cech fenotypowych i histochemicznych ich składowych zarodnika używając okazów świeżo wyekstrahowanych z żywych kultur, (ii) badań cech ich struktur mikoryzowych, (iii) porównań morfologicznych ich cech z cechami innych spokrewnionych gatunków i (iii) analiz filogenetycznych sekwencji ich regionu SSU-ITS-LSU nuc rDNA, genów *RPB1* i *hsp60*, jak również powiązanych sekwencji tych trzech locusów; (2) skonstruowanie nowych starterów, które będą bardziej wydajnie amplifikować informację molekularną zawartą w genach *RPB1* i *hsp60*; i (3) zebranie, przeanalizowanie oraz zdefiniowanie cech morfologicznych i molekularnych nieopisanych gatunków pochodzących z wydm nadmorskich, które są hodowane w żywych kulturach AGM utrzymywanych w Pracowni Ochrony Roślin Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie.

Badania wymienione wyżej zostaną przeprowadzone stosując następujące metody: (a) hodowanie wazonowych kultur pułpkowych z glebami ryzosferowymi i korzeniami roślin wydmowych oraz kultur jednogatunkowych z morfotypami wyekstrahowanymi z kultur pułpkowych w celu otrzymania dużej ilości żywych zarodników i utworzenia z nich kultur jednogatunkowych z wyodrębnionymi morfotypami; kultury te są utrzymywane w szklarni z kontrolowanym oświetleniem i temperaturą; ich rośliną gospodarzem jest *Plantago lanceolata*, (b) ekstrahowanie i identyfikowanie zarodników AGM; zarodniki będą ekstrahowane metodą stosowaną przez promotora kierownika projektu i identyfikowane na podstawie dostępnych opracowań i zdeponowanych lub wypożyczonych okazów, (c) określanie własności molekularnych i pozycji filogenetycznych AGM na podstawie analiz sekwencji regionu SSU-ITS-LSU nrDNA i genów *RPB1* oraz *hsp60*; ekstrahowanie DNA z zarodników, jego amplifikowanie, klonowanie i sekwencjonowanie oraz analizowanie filogenetyczne sekwencji będą przeprowadzane według metod scharakteryzowanych w literaturze, (e) określanie własności chemicznych prób glebowym metodami standardowymi; będą one dotyczyć pH, zawartości N, P, K i węgla organicznego.

Wyniki projektu (i) ułatwią identyfikowanie AGM i zrozumienie ich wpływu na funkcjonowanie ekosystemów, (ii) istotnie wzbogacą wiedzę o naturze, występowaniu i rozmieszczeniu AGM w świecie, (iii) umożliwią monitorowanie AGM scharakteryzowanych w czasie realizacji projektu przez użycie markerów molekularnych i (iv) znacznie ułatwią prowadzenie dalszych badań przez naukowców różnych sfer oraz zwiększą efektywność stosowania AGM w praktyce.