

Przetrwanie roślin w stale zmiennym środowisku jest zależne od symbiozy ze społecznościami mikroorganizmów, które wchodzi z sobą w wielopoziomowe interakcje. Jednym z najważniejszych składników mikrobiomu roślin są arbuskularne grzyby mykoryzowe (AGM). AGM obficie kolonizują korzenie roślin i są kluczowe dla ich właściwego odżywienia, fizjologii i przetrwania pod wpływem stresu. Większość przeprowadzonych dotychczas badań skupiała się jedynie na związku AGM i roślin; jednakże, ostatnie wyniki wykazały, że mykoryza arbuskularna (MA) jest bardzo skomplikowaną, wieloskładnikową symbiozą, w której AGM wchodzi w współpracę z roślinami i innymi mikroorganizmami, jak bakterie wspomagające mykoryzę (MHB – z ang. mycorrhiza helper bacteria), które stymulują rozwój, przeżywalność i aktywność AGM. Ponadto, AGM często współżyją w korzeniach z innymi grzybami, np. z endofitami ciemnoseptalnymi (DSE – z ang. dark septate endophytes). Charakter relacji pomiędzy DSE, roślinami i innymi mikroorganizmami nie został do końca wyjaśniony; jednakże, ostatnie badania ujawniły wysoki potencjał DSE we wspomaganiu wzrostu roślin w środowiskach stresowych.

Celami projektu są: (1) izolacja DSE i MHB z miejsca skażonego wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (WWA), (2) ocena ich potencjału do promowania wzrostu roślin i degradacji węglowodorów oraz wspierania AGM w poprawie kondycji roślin rosnących w doniczkach skażonych WWA, (3) ocena wpływu wyselekcjonowanych zespołów AGM-MHB-DSE na bioróżnorodność rodzimych społeczności mikroorganizmów żyjących na skażonym terenie, skupiając się na ich potencjale do degradacji WWA, właściwościach do promowania wzrostu roślin oraz aktywności metabolicznej.

DSE i MHB wyizolowane ze środowiska skażonego WWA zostaną poddane selekcji uwzględniając ich potencjał do promowania wzrostu roślin oraz zdolności do: a) tolerancji oraz degradacji WWA b) użycia różnych organicznych źródeł węgla, fosforu i azotu, c) kolonizacji korzeni (DSE), d) stymulacji rozwoju AGM w korzeniach hodowanych *in vitro* (MHB). Wyselekcjonowane DSE i MHB zostaną wprowadzone równocześnie z AMF oraz osobno do kultur doniczkowych obsadzonych życią trwałą i koniczyną, skażonych WWA (0, 20, 60, 120 mg kg<sup>-1</sup>). AGM zastosowanym w eksperymencie będzie *Funneliformis caledonium*, gatunek wybrany w poprzednim projekcie badawczym jako wspierający kondycję roślin narażonych na zanieczyszczenie WWA.

Po zakończeniu eksperymentu, wzrost roślin, stres oksydacyjny, aktywność mechanizmów obronnych roślin oraz pobór składników odżywczych zostaną ocenione poprzez pomiary: biomasy pędów i korzeni, zawartości pigmentów w liściach, poziomu uszkodzenia oksydacyjnego lipidów i DNA, aktywności enzymów antyoksydacyjnych i stężenia związków antyoksydacyjnych, aktywności genów kodujących enzymy antyoksydacyjne, transportery składników odżywczych oraz zaangażowanych w indukcję odporności systemicznej u roślin. Rozwój oraz przeżywalność AGM, DSE i MHB w ryzosferze zostaną ocenione poprzez oszacowanie kolonizacji korzeni przez AGM/DSE oraz identyfikację i ocenę ilościową markerów genetycznych specyficznych dla AGM, bakterii oraz grzybów. Wpływ AGM, DSE oraz MHB na degradację WWA w podłożu wzrostowym zostaną oszacowane poprzez analizę stężenia WWA oraz ocenę aktywności grzybowych i bakteryjnych genów zaangażowanych w degradację węglowodorów.

Mikroorganizmy o najwyższej efektywności w promowaniu wzrostu roślin i degradacji WWA zostaną użyte do założenia starterowych kultur doniczkowych z życią i koniczyną. Kultury te zostaną wprowadzone do doniczek zawierających rośliny i glebę pobrane ze skażonego miejsca, aby zbadać wpływ AGM, DSE i/lub MHB na wzrost natywnych roślin oraz bioróżnorodność natywnych społeczności AGM, grzybów i bakterii poprzez: sekwencjonowanie nowej generacji, profilowanie metaboliczne, ocenę aktywności enzymatycznej w glebie oraz aktywności genów kodujących enzymy rozkładające węglowodory w glebie.

Rezultaty projektu przyczynią się do głębszego poznania słabo zbadanej biologii i ekologii AGM, MHB i DSE oraz ich bezpośredniego, synergicznego oraz zależnego od środowiska potencjału do promowania wzrostu roślin. Wiedza ta może być użyteczna w zwiększaniu efektywności fitoremediacji opierającej się na współpracy pomiędzy roślinami i mikroorganizmami w oczyszczaniu środowisk skażonych węglowodorami.