

Praca doktorska mgr Dominika Thiem

Mikrobiom korzeni *Alnus glutinosa* Gaertn. w warunkach stresu solnego

Streszczenie

Wrastające w ostatnich latach zasolenie wód i gleb jest jednym z ważniejszych abiotycznych czynników środowiska wykazujących negatywny wpływ na wzrost i rozwój roślin. Ponadto, podwyższone zasolenie gleby wpływa na zbiorowiska mikroorganizmów ryzosferowych i endofitycznych, powodując zmiany w ich liczebności, bioróżnorodności jak i aktywności metabolicznej. *Alnus glutinosa* Gaertn. (olsza czarna) jest drzewem o podwyższonej tolerancji na występowanie różnych stresów abiotycznych, w tym zasolenia, i może być wykorzystywana do zalesiania i rekultywacji terenów zdegradowanych. Przypuszcza się, że czynnikiem predysponującym ten gatunek drzewa do tolerowania niekorzystnych warunków środowiskowych jest unikalna, trójczynnkowa symbioza, która może w tym samym czasie funkcjonować w jej korzeniach: mykoryza arbuskularna (AM), ektomykoryza (EM) oraz symbioza z promieniowcami *Frankia* sp. Jak dotąd nie wykazano jak ten wyjątkowy układ symbiotyczny olszy wpływa na różnorodność pozostałych mikroorganizmów endofitycznych zasiedlających korzenie tego drzewa, zwłaszcza w warunkach podwyższonego zasolenia.

Celem niniejszej pracy było: (i) scharakteryzowanie struktury zbiorowiska bakterii i grzybów zasiedlających korzenie *A. glutinosa* w warunkach stresu solnego, ze szczególnym uwzględnieniem mikroorganizmów symbiotycznych oraz (ii) ocena wpływu wyselekcjonowanych szczepów grzybów na wzrost i tolerancję na zasolenie przez siewki olszy czarnej.

Do zbadania różnorodności endofitów korzeniowych olszy czarnej wykorzystano zarówno tradycyjne metody identyfikacji, np. oparte na analizie morfologicznej i anatomicznej wierzchołków ektomykoryzowych, jak i analizę metagenomową (Illumina MiSeq). Badania przedstawione w pracy przeprowadzono na korzeniach olszy czarnej występującej na terenie niezasolonym (NS - Pszczółczyn) oraz zasolonym (S - Słonawy). Charakterystykę wyizolowanych i zidentyfikowanych grzybów (np. aktywność hydrolityczna, tolerancja na NaCl) sprawdzano w testach *in vitro*.

Wykazano, że zasolenie było najistotniejszym parametrem fizykochemicznym gleby wpływającym na zbiorowiska bakteryjnych i grzybowych mikrobiomów olszy czarnej. Zasolenie gleby istotnie obniżało różnorodność bakterii i grzybów EM, natomiast zwiększała się różnorodność grzybów endofitycznych. Do grup taksonomicznych, które preferowały stanowiska zasolone należały przede wszystkim grzyby EM z rzędu Thelephorales oraz endofityczne grzyby z klasy Leotiomycetes.

Dominującymi symbiontami w trójczynnikowej interakcji mutualistycznej były grzyby EM, tj. *Tomentella* sp., *Thelephora* sp., *Lactarius* sp. czy *Naucoria* sp. (*Alnicola*), podczas gdy grzyby AM stanowiły znikomą część badanego mikrobiomu (<1% analizowanych OTU). W obrębie zbiorowisk bakteryjnych zidentyfikowano bakterie biorące udział w obiegu azotu: *Frankia* sp. oraz bakterie nityfikacyjne i denityfikacyjne.

W przeprowadzonym doświadczeniu donicowym, grzyb ektomykoryzowy *Paxillus involutus* OW-5 stymulował wzrost siewek olszy czarnej zarówno w warunkach stresu solnego, jak i w warunkach kontrolnych, natomiast *A. muscaria* OW-10 jedynie w podłożu niezasolonym.

Podsumowując, uzyskane wyniki wykazały, że na korzeniach olszy czarnej w warunkach zasolenia dominują grzyby ektomykoryzowe (z dominacją przedstawicieli *Thelophorales*), zaś udział grzybów arbuskularnych wśród symbiontów mykoryzowych jest znikomy, co sugeruje ich drugorzędną rolę w tym środowisku. Częstość występowania bakterii *Frankia* sp. na stanowisku zasolonym była wyższa, co zwraca uwagę na ich istotną rolę w funkcjonowaniu olszy w warunkach zasolenia. Szczep *P. involutus* OW-5 może być wykorzystany jako bioinokulum stosowane do poprawy wzrostu olszy czarnej na terenach zasolonych poddanych rekultywacji. Konieczna jest jednak kontynuacja badań w warunkach naturalnego środowiska, w celu określenia wpływu zastosowania tego szczepu na populację olszy oraz inne gatunki drzew leśnych.

Miriam Dominika

19.06.2020 r.