Značaj mikoriznih asocijacija u voćarskoj proizvodnji

Cimprić, Andrea

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:547879

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







SVEUĻILIĠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Značaj mikoriznih asocijacija u voćarskoj proizvodnji

DIPLOMSKI RAD

Andrea Cimpriĺ

Zagreb, srpanj, 2017.

SVEUĻILIĠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Hortikultura: voĺarstvo

Značaj mikoriznih asocijacija u voćarskoj proizvodnji

DIPLOMSKI RAD

Andrea Cimpriĺ

Mentor: prof. dr. sc. Sanja Sikora

Zagreb, srpanj, 2017.

SVEUĻILIĠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ĻESTITOSTI

Ja, **Andrea Cimprić**, JMBAG 0178084224, roĽena dana 29.3.1992. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

Značaj mikoriznih asocijacija u voćarskoj proizvodnji

Svojim potpisom jamļim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi koriġteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrġi dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi zavrġetka sveuļiliġnog ili struļnog studija;
- da je elektroniļka verzija ovoga diplomskog rada identiļna tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etiļkog kodeksa Sveuļiliġta u Zagrebu (Ļl. 19).

U Zagrebu, dana _____

_____

Potpis studenta / studentice

SVEUĻILIĠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVIJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Andrea Cimprić**, JMBAG 0178084224, naslova

Značaj mikoriznih asocijacija u voćarskoj proizvodnji

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

1. prof. dr. sc. Sanja Sikora _____
2. izv. prof. dr. sc. Mihaela Blaġinkov _____
3. izv. prof. dr. sc. Martina SkendroviĹ BabojeliĹ _____

SADRŽAJ

SAŽETAK **6**

SUMMARY **7**

1. UVOD **1**

2. TLO KAO STANIŠTE ZA MIKROORGANIZME **2**

2.1. Utjecaj svojstava tla na mikroorganizme 2
2.2. Rasprostranjenost gljiva u tlu 3
2.3. Širenje gljiva u tlu 4
2.4. Hranidbeni obrasci i mehanizmi preživljavanja gljiva 6

3. MIKORIZNE ASOCIJACIJE **8**

4. EKTOMIKORIZA **11**

4.1. Morfologija ektomikoriza 11
4.2. Biljke domaćini 12
4.3. Tijek formiranja ektomikoriza 13

5. ARBUSKULARNA MIKORIZA **15**

5.1. Gljive koje tvore arbuskularne mikorize 16
5.2. Biljke domaćini 17
5.3. Morfologija i anatomija arbuskularnih gljiva 17
5.4. Tijek kolonizacije 18

6. MIKORIZE PRISUTNE KOD RODA ERICALES **21**

6.1. Arbutoidne i monotropoidne mikorize 21
6.2. Erikoidne mikorize 22

7. EKOLOŠKI ZNAČAJ I PRIMJENA MIKORIZNIH GLJIVA U VOĆARSKOJ PROIZVODNJI **23**

7.1. Uloga mikoriznih asocijacija u različitim ekosustavima 24
7.2. Gubitak hraniva ispiranjem 25
7.3. Ekološka važnost mikoriznih asocijacija 26
7.4. Uloga arbuskularnih mikoriza u smanjenju gubitaka fosfora i dušika 28
7.5. Uloga mikoriza u usvajanju hraniva te rastu i razvoju biljke 29
7.6. Otpornost biljke na stres 34
7.7. Otpornost na bolesti i štetočine 38
7.8. Korist mikoriznih asocijacija za tlo 40
7.9. Utjecaj okolišnih faktora i agronomskih zahvata na mikorizu 41

8. PRIMJENA MOLEKULARNIH METODA U IDENTIFIKACIJI MIKORIZNIH GLJIVA **45**

8.1. Identifikacija mikoriznih gljiva 45
8.2. Izolacija DNK mikoriznih gljiva iz uzorka tla 45
8.3. PCR metode 46
8.4. DNK sekvencioniranje 47
8.5. Identifikacija i kultivacija ektomikoriznih gljiva 47
8.6. Identifikacija arbuskularnih gljiva 48
8.6.1. Inokulacija biljaka domaćina arbuskularnom gljivom 49

9. ZAKLJUČAK **50**

10. LITERATURA **51**

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Andree Cimprić**, naslova

Značaj mikoriznih asocijacija u voćarskoj proizvodnji

Mikorize su simbiozne asocijacije između gljiva i korjena viših biljaka. U ovom preglednom radu detaljno je obrađeno na koji način ovi mikroorganizmi tla mogu unaprijediti voćarsku proizvodnju. Obzirom na rastuće zahtjeve u ekološkoj proizvodnji voća i regulativi prisutnoj u upotrebi sredstava za zaštitu, postoje utemeljene naznake da bi mikorizacija mogla biti korisna mjera u ekološki prihvatljivoj zaštiti bilja. Mikorizne gljive povećavaju biljnu otpornost na biotske i abiotske stresove, ponajviše otpornost na sušu, zaslanjenost tla te povećavaju biljnu otpornost na biljne bolesti i štetočine. Brojna istraživanja obrađena u ovom radu dokazuju pozitivan utjecaj mikoriza na usvajanje hraniva od strane biljke, povećavaju njen vegetativni rast, kod nekih voćnih vrsta ubrzavaju vrijeme dozrijevanja i utječu na veličinu i kemijski sastav plodova. Cilj ovog rada je opisati glavne značajke mikoriznih asocijacija te na koji način se one mogu iskoristiti u ekološki prihvatljivijoj, i kroz povećanje prinosa, ekonomski isplativijoj voćarskoj proizvodnji.

Ključne riječi: mikorizne asocijacije, voćarstvo, simbioza

Summary

Of the masterôs thesis ï student Andrea Cimpríč, entitled

Significance of mycorrhizal asociations in fruit production

Mycorrhizae are symbiotic associations between fungi and plant roots. The aim of this paper is to present how these soil microorganisms can be useful in fruit production improvement. Taking into consideration growing demands in organic fruit production and corresponding legislation, mycorrhizal associations show increasing promise as an ecologically acceptable technique in plant protection. Mycorrhizal fungi increase plant resistance to disease and pests. Many of the studies presented in this paper prove positive effect of mycorrhizae on plant nutrient absorption, vegetative growth and even on fruit ripening, size and chemical composition. This paper focuses on the main features of mycorrhizal associations, as well as how they could be used in ecologically acceptable and economically profitable fruit production.

Keywords: mycorrhizal associations, fruit production, symbiosis

1. Uvod

Mikorizne asocijacije su simbiozni odnosi u kojima gljive koloniziraju kortikalno tkivo korjena biljke domaćina, pri čemu oba člana imaju korist jedan od drugoga. Biljka putem simbioze sa mikoriznom gljivom ima bolji pristup hranivima koje gljiva usvaja iz velikog volumena tla putem mreže razgranatih hifa. Zauzvrat, biljka gljivi pruža organski oblik ugljika. Biljka putem mikorizne asocijacije sa gljivom dobiva hraniva iz većeg volumena tla, što omogućava rast i razvoj čak i onda kada tlo nije bogato hranivima. Smatra se da su upravo mikorize, a ne korjenje biljaka, glavni organ za usvajanje hraniva iz tla. Brojni fosilni nalazi mikoriznih asocijacija, starih između 410 i 440 milijuna godina, upućuju na to da je upravo zahvaljujući mikoriznim asocijacijama došlo do prekrivanja kopna biljkama.

Rastući broj istraživanja koji potvrđuju pozitivne učinke mikoriza jasno ukazuje da je ne uzimanje mikoriznih asocijacija u voćarskoj, a i općenito poljoprivrednoj proizvodnji, u najmanju ruku nepreporučivo. Uspostavljanje ovih simbioznih odnosa omogućava uzgoj biljaka na manje stabilnim tlima, kao što su pjeskovita tla na kojima često dolazi do ispiranja hraniva, zatim uzgoj u uvjetima velike zaslanjenosti tla. Pokazale su se korisnima i u uvjetima suše. Svojim djelovanjem mikorizne gljive mogu mijenjati pH vrijednost tla otpuštanjem H^+ iona ili putem proizvodnje organskih kiselina, što znači da je uz mikorizu moguć uzgoj na tlima koja bi radi svoje pH vrijednosti bila manje pogodna za uzgoj nekih voćnih vrsta.

Osim brojnih pozitivnih utjecaja na rast i razvoj biljke te na jačanje otpornosti na abiotske stresove, mikorizne gljive pokazale su se učinkovitima u zaštiti bilja od nekih biljnih bolesti i štetočina. U ekološkom kontekstu, mikorize se mogu koristiti kao bioindikatori zagađenosti teškim metalima, no osim kao bioindikatore, može ih se upotrijebiti i u filtraciji otpadnih voda. Mnoga istraživanja upućuju na to da su mikorizne asocijacije neizostavan korak u vraćanju prirodne ravnoteže na mjestima na kojima je ona narušena ljudskim djelovanjem ili prirodnim katastrofama, kao što su područja zahvaćena požarima, ili tla kakva nalazimo u okolici rudnika koja su nepovoljna za rast i razvoj drvenastih vrsta.

Poljoprivredne, ekološke i ekonomske koristi ovih mikroorganizama su nešto što niti jedan uzgajivač ne bi smio zanemariti, osobito s obzirom na rastuće zahtjeve za organskim i ekološkim uzgojem voća. Cilj ovog rada je detaljno prikazati pozitivne osobine mikoriznih asocijacija sa korjenjem viših biljaka, te naći ine na koje se one mogu uspješno koristiti u komercijalnoj voćarskoj proizvodnji.

2. Tlo kao stanište za mikroorganizme

Ukoliko želimo razumjeti mikrobiologiju tla, prvo je potrebno razumjeti tlo kao dinamično stanište nastalo pod utjecajem mnogih međusobno povezanih čimbenika.
Tlo je nastalo kao rezultat pedogenetskih procesa transformacije mineralne i organske tvari, pod utjecajem reljefa, klime, živih organizama, vremena, utjecaja ljudske aktivnosti te matičnog supstrata (Husnjak, 2014).
Tlo je pod utjecajem više čimbenika, kao što su interakcija klime, naročito temperature i kiše, živih organizama, topografije u kontekstu nagiba i nadmorske visine te izvornog materijala odnosno mješavine minerala i organske tvari. Uzevši u obzir kompleksnost svakog pojedinog čimbenika i međusobnog utjecaja jednog na drugi, tlo se smatra najkompleksnijim staništem za mikroorganizme.

Važno je poznavati fizikalne karakteristike tla (tekstura, gustoća, poroznost i struktura), kiselost tla, te abiotske čimbenike budući da su ti faktori usko povezani sa mikrobiološkom aktivnosti. Mikroorganizmi mogu svojim djelovanjem na pozitivan ili negativan način utjecati na navedene karakteristike pa je iz tog razloga potrebno obratiti pozornost na obilježja tla.
Od fizikalnih karakteristika treba obratiti pozornost na teksturu jer je ona važna za prozračnost i propusnost što je pak dalje važno za vodozračni režim tla. Tu su usko povezana gustoća čestica i poroznost budući da su upravo ti međuprostori u tlu staništa za mikroorganizme. Tako pjeskovito tlo ima veću gustoću zapremnine i manje poroznog prostora (30-50%) u odnosu na glinena tla koja imaju 50-60% poroznog prosora (Sylvia i sur., 2005).

2.1. Utjecaj svojstava tla na mikroorganizme

U pravilu, većina mikroorganizama i biljaka preferira neutralnu pH vrijednost između 6 i 7 budući da je to vrijednost u kojoj su hraniva najbolje dostupna. Nemaju sve vrste mikroorganizama iste zahtjeve za uvjetima u tlu, pa tako primjerice aktinomicete preferiraju neutralne uvjete i ne podnose dobro kiselost, dok s druge strane mikroorganizme nalazimo i na područjima čija pH vrijednost varira između 1 i 13; štoviše, većina gljiva podnosi kisela tla. Ne samo da pH tla utječe na prisustvo i zastupljenost mikroorganizama, već i mikroorganizmi imaju sposobnost mijenjati pH vrijednost tla u kojem se nalaze na način da, u

prisustvu kisika, neki mikroorganizmi oksidiraju amonijak i sumpor otpuštajuć i H^+ ion dok pod anaerobnim uvjetima proizvode organske kiseline.
Abiotski čimbenici tla su također važni za mikrobiološku aktivnost.
Treba uzeti u obzir vodni potencijal čija se važnost očituje u tome što utječe na razmjenu plinova i razne kemijske reakcije u tlu kao što je hidroliza. Bez vode nema mikrobiološke aktivnosti. Mikroorganizmi reagiraju na vodni stres na način da organizme količina vode u tlu također ograničava kretanja mikroorganizama u tu.

Nadalje treba se osvrnuti na aeraciju tla, odnosno stupanj opskrbljenosti tla kisikom. Korjenu je potrebna dovoljna količina kisika za respiraciju, jednako kao aerobnim mikroorganizmima. U tlu se također nalaze fakultativno anaerobni mikroorganizmi koji mogu opstati u uvjetima sa ili bez kisika te obligatni anaerobi koje možemo naći isključivo u dubljim slojevima tla u kojima kisik nije prisutan.
Od abiotskih čimbenika važna je i temperatura tla budući da direktno utječe na velik broj fizikalnih i kemijskih procesa u tlu te na brzinu kojom se odvijaju, pri čemu je općenito poznato da se brzina kemijskih reacija udvostručuje za svako povećanje temperature od 10°C.
Svi ovi parametri važni su za uspostavljanje željene mikrobne populacije i za održavanje vijabilnog broja mikroorganizama i njihovih spora u tlu.

2.2.Rasprostranjenost gljiva u tlu

Gljive čine jedno od carstava u domeni eukariota sa izuzetno raznolikim načinima reprodukcije i životnim ciklusima, te se pretpostavlja da sadrži više od milijun vrsta, od kojih je znanstveno opisano približno 70 000. Možemo ih kategorizirati na parazite, saprofite, endofite i mikorizne gljive ovisno o tome na koji način dolaze do hraniva, međutim uvijek postoje iznimke. Nalazimo ih na velikoj većini organskih supstrata pri čemu služe kao izvor hrane raznim životinjama, kao saprofiti, imaju značajnu ulogu u agregaciji tla, a neke od njih mogu biti patogene. Granaju se kroz veliki volumen tla putem micelija koji ima neodređeni rast - na taj su način sposobne iskorištavati hraniva iz velikog volumena tla. Spore se stvaraju spolno, nespolno ili na oba načina. Spore ne samo da sadrže roditeljsku jezgru novog genotipa (kroz rekombinaciju, mutaciju ili paraseksualizam) već služe kao strukture za fazu mirovanja i funkcioniraju kao mehanizam daljnjeg širenja gljive (Sylvia i sur., 2005).
Kao eukariotski organizmi imaju organele koje su relativno slične onima kakve nalazimo kod biljaka i životinja, pri čemu su razlike vidljive u vakuolama i u endoplazmatskom retikulumu;

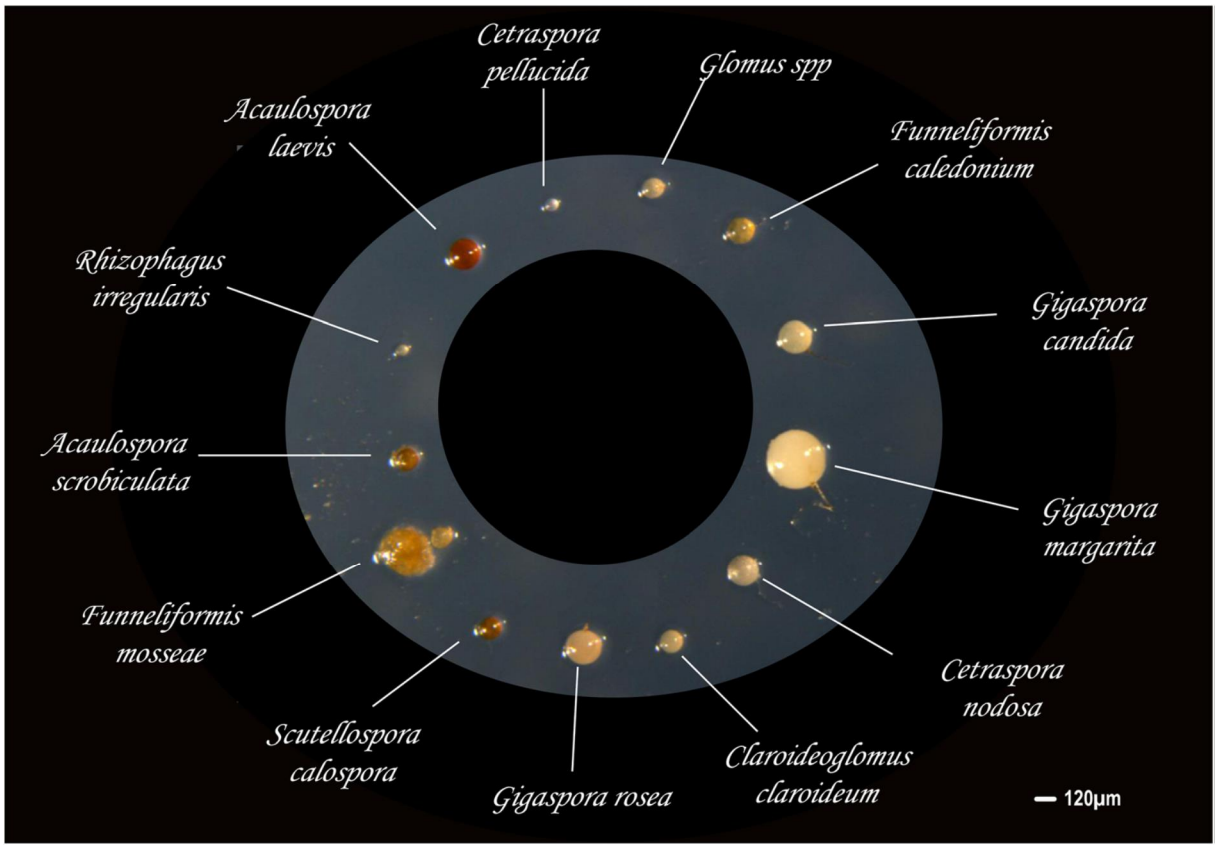
i iako ne sadrže klorofile, i dalje posjeduju sliČnosti sa biljkama u tome što su slabo pokretne i imaju staniČne stijenke, meĐutim morfološki su ipak sliČnije životinjama nego biljkama.

2.3.Širenje gljiva u tlu

Gljive se služe micelijem kako bi se kružno širile u tlu, priČemu se hifa, odnosno micelarna nit, grana kroz pore tla u svim smjerovima te na taj naČin omogućava gljivi da zaobilazi ona područja u tlu koja nisu bogata hranivima. Svojim širenjem, gljiva direktno utječe na strukturu tla na naČin da ga rahli. Po svojoj graĐi hifa je dugaČka cijev iznutra pregraĐena septama ili pregradama.

Mnoge gljive u tlu iz redova *Ascomycota* i *Basidiomycota* mogu organizirati hife u specijalizirane organe kao što su micelarne niti, rizomorfi i sklerocij. Micelarne niti su u sužtini paralelne hife meĐusobno uČvršćene pomoću ljepljivih eksudata. Takve su niti uglavnom u bliskom kontaktu sa tlom kako bi došle do vlage za translokaciju uz rastući rub micelija dok prodire u drvenasta tkiva.

Rizomorfi su definirani kao nešto kompleksnije verzije micelarnih niti sa nešto većim stupnjem diferencijacije tkiva; vrlo su otporni na okolišne promjene, omogućuju jače sredstvo za penetraciju zemlje i organskog materijala nego hife, opskrbljuju vrhove hifa kisikom te transportiraju hraniva kroz organizam gljive. U tlu se granaju Čak osam puta brže nego tipiČni micelij i tamo opstaju godinama. Njihova se vaŽnost vidljiva je time što se neuspjeh mnogih voćnjaka podignutih na područjima oČišćenim od šuma pripisuje upravo obilju živućih rizomorfnih mreža u tlu Čak i nakon primjene fumigacije, iz čega je vidljiv znaČaj i potencijal ovih organa (Sylvia i sur., 2005).



Slika 2.1 Spore različitih vrsta gljiva
(Izvor: Trouvelot i sur., 2015)

Sklerocij je pak sferiļni, oļvrsnuli micelij koji se sastoji od isprepletenih hifa a u svojem je središtu sliļan biljnom parenhimskom tkivu, meĽutim izvana tvori tvrdu koru unutar koje se nalazi debela stijenka i služi kao spremnik hraniva za preživljavanje u manje povoljnim uvjetima. Sklerocij se lakše raspršuje od drugih micelarnih agregata time što je odvojen od roditelja micelija te zbog svoje tvrde vanjske kore ima bolju otpornost na sušu i temperaturne fluktuacije što ga ļini i dugovjeļnijim od micelija. Njegova uloga je takoĽer pohrana lipida, ugljikohidrata i proteina sve dok se uvjeti u tlu ne pokažu povoljnima za razmnožavanje, nakon ļega se tvori ili novo reproduktivno tijelo, ili novi micelij.

Razmnožavanje gljiva može biti putem formiranja reproduktivnih tijela, kao što su spore, i to seksualno ili aseksualno (Slika 2.1). Pritom spore u sebi sadrže razne faktore koji se aktiviraju pod razliļitim uvjetima stresa i na taj naļin poveĺavaju vjerojatnost seksualne reprodukcije.

2.4. Hranidbeni obrasci i mehanizmi preživljavanja gljiva

Kao heterotrofni organizmi gljive nalaze hraniva iz organske tvari u okoliśu. Obzirom na različite tipove gljiva i njihovu različitu morfologiju, i hranidbeni obrasci se razlikuju. Tako saprofiti, odnosno gljive koje razlaśu mrtvu organsku tvar, rastu u aerobnim uvjetima i izuzeto su vaśni za proces mineralizacije tla. Kod hifa i kvasaca, hraniva se usvajaju kroz stanične stijenke. Gljive su sposobne traśiti i usvajati hraniva lak i onda kada ona nisu ravnomjerno raspoređena u tlu. To je moguće zahvaljujući miceliju, odnosno način na koji je micelij građen. Budući da je micelij po svojoj strukturi nitast, a hife se mogu granati u svim smjerovima, gljiva time ima sposobnost traśiti hraniva u tlu tako da zaobilazi područja siromašna hranivima, da zaobilazi razne barijere i područja ispunjena plinovima i time dolazi do bogatijih dijelova tla.

Gljiva je sposobna translocirati usvojena hraniva u one dijelove svojeg organizma gdje su ta hraniva najpotrebnija, a sve u svrhu omogućavanja kontinuiranog rasta i razmnośavanja. Kada se nedostatak hraniva proširi na veće područje, gljive često preživljavaju tako da pohranjuju dostupna hraniva u spore i onda ih rasprśuju u povoljnija područja.

U ovom je radu naglasak na gljive koje formiraju specijalizirane asocijacije sa drugim živim organizmima i na taj način usvajaju potrebna hraniva. Riječ je o biotropnom tipu odnosa, koji dolazi od grčke riječi *bios* = život i *trophy* = hranjenje, pri čemu gljiva i biljka domaćin uspostavljaju bliske kontakte putem specijaliziranih struktura, pritom uzrokujući promjene u biljci domaćinu. Vrijeme trajanja takvog odnosa, odnosno kontakta, ovisit će o okoliśnim uvjetima te fiziologiji dvaju simbionata.

Budući da gljive nisu sposobne daleko se niti brzo pomicati, poput biljaka, oslanjaju se na druge mehanizme preživljavanja kao što je razmnośavanje sporama, kako bi osigurale nastavak vrste čak i u nepovoljnim okoliśnim uvjetima. Gljiva proizvodi spore, odnosno organe obavijene debelom stijenkom koja ih štiti od nepovoljnih okoliśnih uvjeta. U takvim slučajevima, kada je iz nekog razloga ograničen rast, gljiva je potaknuta na sporulaciju kako bi osigurala dalekosežno rasprśivanje. Spora je tada u fazi mirovanja sve dok se okoliśni uvjeti ne promijene i dok ne postanu povoljni za klijanje. Sve gljive ne sporuliraju, primjerice u slučajevima kada gljiva tvori takav odnos sa domaćinom da za sporulacijom nema potrebe jer ju biljka domaćin štiti od nepovoljnih uvjeta.

Prema Stametsu (2005) gljive bi mogle biti ključ za zdravlje čovječanstva, što zbog nezamjenjive uloge u recikliranju organske tvari, što zbog činjenice da drveće i mnoge druge

zelene biljke ne bi mogle rasti i doseć i zrelost bez simbioznih asocijacija sa gljivama, o kakvima je riječ u ovom radu. Ove asocijacije pokazuju neizmjeran potencijal ne samo u poljoprivrednoj proizvodnji već za ekologiju, za bioodrživost i rješavanje pitanja zagađenja okoliša i poboljšanja svojstava tla.

3. Mikorizne asocijacije

Termin Ămikorizne asocijacijeñ odnosi se na simbiozne odnose izmeĽu gljiva i korjenovog sustava viġih biljaka. Prevedeno, Ămikorizañ znaļi Ăgljiviļno korjenjeñ (Subba Rao, 1999) priļemu simbiozni odnos podrazumijeva zajedniļki suġivot izmeĽu dvaju (u nekim sluļajevima i viġe) razliļitih organizama u kojemu i jedan i drugi ļlan ima korist. Termin Ăsymbiotismusñ (simbioza) prvi je put upotrijebio Albert Bernhard Frank (Smith i Read, 1996) i opisao ju kao neutralni termin koji se razlikuje od parazitizma, odnosno odnosa u kojemu jedan sudionik ima korist na ġtetu drugoga, veĺ se temelji na ranije opisanom suġivotu dvaju meĽusobno razliļitih organizama. Primjerice, simbioza gljive i alge kod liġajeva. Kod takvih mutualistiļkih simbioza, oba simbionta imaju korist jedan od drugoga.



Slika 3.1 Mikoriza
(Izvor: http://www.motherearthnews.com)

Nedavna istraġivanja mikoriza ukazala su na nevjerojatnu raznolikost u strukturi, razvoju i funkciji unutar pojedinih tipova mikoriza, te da je za samu mikoriznu asocijaciju vaġan soj gljive i vrsta biljke domaĺina.

Mikorize su dakle simbiozni odnosi u kojima gljive koloniziraju kortikalno tkivo korjena biljke domaĺina tokom perioda aktivnog rasta biljke (Slika 3.1), meĽutim ove asocijacije

ļesto znaju zahvaćati i druge podzemne organe biljke (Subba Rao, 1999). Najjednostavnije rečeno, ova asocijacija funkcionira na način da gljiva od biljke dobiva organski C, a gljiva s druge strane prikuplja hraniva za biljku, što ukazuje na vrlo direktnu agronomsku korist u kontekstu rasta i prinosa ali i u kontekstu poboljšane biljne reproduktivne sposobnosti.
Smatra se da su upravo mikorize, a ne korjenje, glavni organ za usvajanje hraniva kod kopnenih biljaka i ļak su i najranije kopnene biljke koje nisu imale pravo korjenje, bile kolonizirane hifama gljiva koje su tvorile vezikule i arbuskule slične onima kakve nalazimo i danas. Smith i Read (1996) također navode brojne fosilne nalaze stare između 410 i 440 milijuna godina, koji ukazuju na simbiozne odnose između biljaka i gljiva iz roda *Glomus*.

Nedavna ispitivanja utvrdila su postojanje arbuskularnih mikoriza ili mikoriza gljiva iz roda *Glomus* sa izumrlom biljkom *Aglaophyton major*, nađene u škotskom rožnjaku, odnosno silicijskoj sedimentnoj stijeni, što dokazuje postojanje arbuskularnih mikoriza u doba ranog devona (Smith i Read, 1996). Takvi fosilni nalazi upućuju da je upravo zahvaljujući mikoriznim asocijacijama došlo do kolonizacije kopna, iz čega se može sa sigurnošću utvrditi da je važnost mikoriznih asocijacija neprocjenjiva ne samo u agronomskom već i u ekološkom kontekstu i u kontekstu bioodrživosti.

Bilo da korist mikoriznih asocijacija promatramo iz ekološkog ili agronomskog gledišta, u oba slučaja korist proizlazi iz kritične veze, koju mikorizna gljiva tvori između biljnog korjena i tla (Sylvia i sur., 2005). Budući da gljive imaju sposobnost prikupljati hraniva iz otopine tla na područjima do kojih biljni korjen ne dopire, hife koje se šire u tlu povećavaju efektivnu upijajuću površinu biljke. Samim time gljiva biljci omogućava usvajanje hraniva i u slučajevima kada tlo nije bogato hranivima ili vodom. Na taj način biljci omogućava rast i reprodukciju u uvjetima u kojima biljka to ne bi mogla samostalno, ili ne bi mogla jednako učinkovito sama usvajati hraniva, što dalje vodi ka poboljšanom rastu i razvoju u nepovoljnim uvjetima za biljku. Iz toga je vidljivo da gljiva poboljšava kompetitivnost biljke i čini ju otpornijom na okolišne stresove u odnosu na biljke koje nisu mikorizirane.
Prema Paulu i Clarku (1998), odnos između finih korjenovih dlačica, kakve posjeduju trave, i mikoriza je uglavnom negativan. Vrste koje posjeduju fino korjenje sa brojnim korjenovim dlačicama nisu toliko ovisne o svojim mikoriznim gljivama za usvajanje hraniva, na način na koji su ovisne leguminoze ili vrste sa grubljim korjenjem poput naranči. Zajednički faktor takvih biljaka koje tvore mikorize je njihova sposobnost da utječu na potencijalnu patogenost

gljive s kojom tvore mikorizu. Primjerice, gljive *Rhizoctonia* su patogeni kukuruza, ali zato tvore stabilne mikorize sa orhidejama.

Najosnovnija podjela mikoriza je na ektomikorize i endomikorize, ovisno o tome na koji način hife gljiva dolaze u kontakt sa korjenom biljke domaćina. Najjednostavnije rečeno ektomikorizne gljive ne prodiru u stanice korjena dok endomikorizne gljive prodiru u samu stanicu. Pritom često dolazi do formiranja specifičnih organa, odnosno struktura koje služe za izmjenu hranjivih tvari sa biljkom. TakoĎer razlikujemo i ektendomikorizu, koja se odnosi na slučajeve kada hifa ektomikoriznih gljivica ponekad ipak uĎe u biljnu stanicu. Kada je obrambeni mehanizam višeg simbionta smanjen, kao što je to kod starog ili bolesnog drveća, niži simbiont može postati endotropan. Takvi primjeri se nazivaju ektoendotropne mikorize ili ektendomikorize.

TakoĎer je poznat i naziv pseudomikorize, koji se odnosi na tanko i dugačko korjenje inficirano gljivama. Gljive su intracelularne u takvog korjenja i teško je definirati da li gljive postoje u ektendomikorizama kao paraziti ili simbionti (Subba Rao, 1999). Ovaj navod podupiru Smith i Read (1996) te tvrde da je većina ektomikoriznih gljiva sposobna formirati intracelularne veze u starijim dijelovima korjena ili u slučajevima kada je iz nekog razloga poremećena ravnotaže hraniva ï u takvim okolnostima zabilježeno je da se gljiva ponaša blago patogeno, meĎutim naziv pseudomikoriza je nedovoljno precizan pa korištenje takvog termina nema dovoljno jako uporište.

Kod takvih slučajeva kada dolazi do ulaska gljive u zdravu korjenovu stanicu hifa može potjecati ili iz Hartigove mreže ili iz hifa koje tvore omotač oko korjena. Neke gljive, kao promjerice *Wilcoxina mikolae* imaju sposobnost diferencirati između ektomikoriza i ektendomikoriza, pa tako u asocijacijama sa biljkama iz rodova *Pinus* ili *Larix* tvore ektendomikorize dok sa biljkama rodova *Abies, Picea i Tsuga* tvore ektomikorize (Smith i Read, 1996).

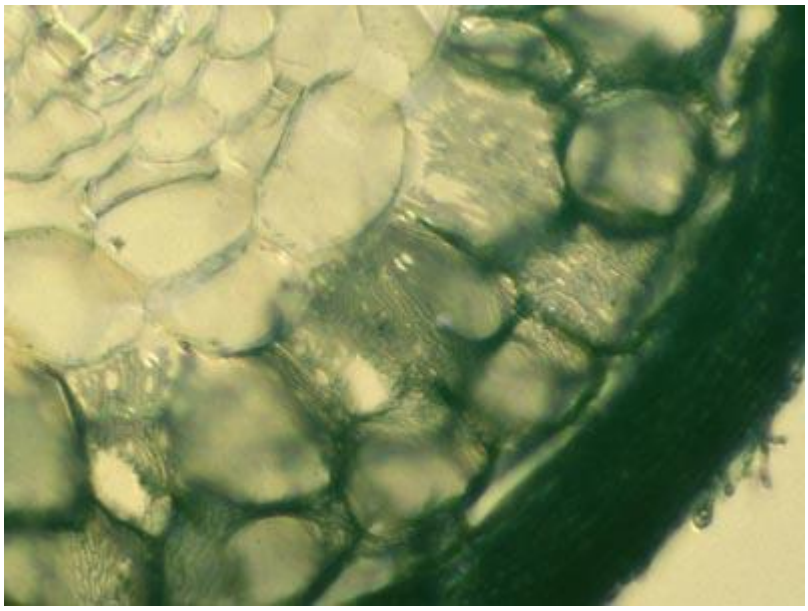
4. Ektomikoriza

Ektomikorize su simbiozni odnosi u kojima hifa gljive dolazi u kontakt sa korjenom biljke meĎutim ne ulazi u njezin unutarstaniČni prostor. Sastoje se od triju strukturalnih komponenti: vanjskog omotaČa koji se formira oko korjena, labirinta hifa koje rastu prema epidermalnim i kortikalnim stanicama koje se zovu Hartigova mreža (Slika 4.1) i od vanjskog sustava koji se sastoji od hifa, a koji tvori esencijalne veze sa tlom i gljivama koje tvore ektomikorize. Interesantna stvar kod ektomikoriza je da se primjenom uree može inducirati razvijanje sporokarpa (Imamura i Yumoto, 2007). Plašt, tj. omotaČ koji hife gljiva formiraju na vrhu korjena povezan je sa hifama okolnih biljnih stanica u kori korjena te se dalje u tlu grana u ekstenzivan micelij i širi se u potrazi za hranivima. Ektomikorize se sastoje od stanica gljiva koje nastanjuju korjenje drveĆa i grmlja iz umjerenog pojasa (Paul i Clark 1998).

4.1.Morfologija ektomikoriza

Kod ektomikoriznih asocijacija morfologija korjena biljke je nešto drugaČija, pa tako korjen na sebi ne sadrži korjenove dlaČice veĆ je prekriven hifama gljive i taj se sloj naziva pseudoparenhimski omotaČ te on posve prekriva upijajuĆi dio korjena (Subba Rao (1999). OmotaČ poveĆava upijajuĆu površinu korjena i Često utjeČe na njegovu morfologiju što rezultira raČvanjem i grupiranjem - ovaj tip organa Čini jasnu razliku izmeĎu ektomikoriza i ostalih tipova mikoriza upravo zato što ne dolazi do intracelularnog prodiranja od strane gljive (Smith i Read, 1996). ČeSto se niti hifa združuju i tvore rizomorfe, vidljive golim okom, Čiji unutrašnji dio diferencira u gomoljaste strukture koje se specijaliziraju za dalekosežne transporte hraniva i vode (Sylvia i sur., 2005).

Dolazi do stvaranja Hartigove mreže, hifa ulazi u korteks korjena i tamo ostaje u vanjskim kortikalnim stanicama tvoreĆi mrežu. Mehanizam translokacije hraniva je takav da gljiva usvaja hraniva putem pseudoparenhimskog omotaČa i zatim, služeĆi se Hartigovom mrežom kao posredniČkim tkivom, dalje translocira hraniva u korjen.



Slika 4.1. Strukturalni detalji Hartigove mreže kod ektomikorize (Izvor: https://mycorrhizas.info/method.html)

Kod ovog tipa asocijacija biljka je sposobna rasti i bez prisustva gljivičnog simbionta ukoliko su hraniva dostupna, međutim uspostava mikorize je i dalje nužna u slučajevima kada glavna hraniva, dušik i fosfor, ne nalazimo u dostatnoj količini. U slučajevima kada želimo introducirati sadnice u područja na kojima prethodno nije bilo mikoriza, nužna je inokulacija tla mikoriznim gljivama (Subba Rao, 1999). Velik broj znanih ektomikoriznih gljiva može se uzgajati bez prisustva biljke domaćina, što omogućava proizvodnju inokuluma. Inokulacija mikoriznom gljivom, primjerice *Pisolithus tinctouris* i *Telephora terrestrius* može znatno pojačati rast bora, naročito na područjima koja ne sadrže odgovarajuća hraniva te koja su zasićena toksičnim metalima i smatra se da ove gljive povećavaju apsorpciju hraniva i da proizvode antibiotike te da stvaraju fizičku barijeru protiv korjenovih patogena kao što su *Pythium*, *Rhizoctonia* i *Phytopthora*. Dokazano je da gljiva može translocirati hraniva iz jedne biljke u drugu, pa je tako glukoza ubrizgana u sadnicu bora translocirana na udaljenost od gotovo 2m u tkivo susjedne biljke (Paul i Clark, 1998).

4.2. Biljke domaćini

Smatra se da otprilike 10% biljnih porodica formira ektomikorize te da se mahom radi o drvenastim biljkama iz porodica *Betulaceae*, *Myrtaceae*, *Rosaceae*, *Pinaceae*, *Dipterocarpaceae* i *Fagaceae* koje formiraju asocijacije sa gljivama iz redova *Ascomycota*, *Basidiomycota* i *Zygomycota*. Smith i Read (1996) potvrđuju navedeno i tvrde da su gotovo

sve biljke na kojima se pronalaze ektomikorizne gljive upravo drvenaste višegodišnje biljke. Mehanizmi međusobnog biranja gljive i biljke domaćina su različiti, pa tako na jednoj biljci domaćinu možemo naći više različitih gljiva, primjerice na običnom boru na čijem je korjenu izolirano čak 40 vrsta gljiva. Gljiva *Pisolithus arbizus* tvori ektomikorize sa više od 46 drvenih vrsta iz najmanje 8 rodova (Sylvia i sur. 2005). S druge strane, neke vrste gljiva kao što su gljive iz rodova *Leccinum* i *Suillus* stvaraju simbiozne odnose samo sa jednim rodom biljaka dok primjerice gljive iz roda *Amanita* imaju sposobnost stvarati mikorizne odnose sa velikim brojem biljaka domaćina. Gljive iz porodica *Agaricaceae, Boletaceae, Russulaceae* i *Cortinariaceae* tvore ekstenzivne mikorize i proizvode jestive podzemne i nadzemne organe.
Smith i Read (1996) navode čak 65 rodova biljaka koji sadrže barem jednu vrstu koja dokazano tvori ektomikorizne asocijacije, iz čak 14 porodica i podporodica. Ektomikorizne asocijacije možemo pronaći u šumama sjeverne hemisfere, u umjerenom i subtropskom pojasu južne hemisfere, u tropima jugoistočne Azije gdje su najvažnije porodice monsunskih šuma gotovo isključivo ektomikorizni simbionti. Obzirom na ovakvu geografsku rasprostranjenost, neizmjerna važnost i značaj ovog tipa mikoriznih asocijacija na globalnoj razini je neosporan.

4.3. Tijek formiranja ektomikoriza

U prirodi, novi korjenovi izdanci mogu biti kolonizirani ektomikoriznim gljivama koje potječu ili iz Hartigove mreže ili iz omotača, međutim novo korjenje koje raste iz dijelova korjenovog sustava na kojima nije prisutna mikoriza, mogu kolonizirati posve druge gljive pomoću propagula otprije prisutnih u tlu. U takvom slučaju proces uspostavljanja mikorize ovisi o prepoznavanju, kompatibilnosti i inokulumskom potencijalu gljive. Ranije navedena mikorizna raznolikost u vidu zahtjeva gljiva prema biljci domaćinu i obratno, pa čak i na primjeru jedne biljke, jasan je pokazatelj kompleksnosti događaja koji prethode kolonizaciji.
Biljni korjen otpušta kemijske spojeve u okolno tlo i takve kemijske spojeve nazivamo korjenovi eksudati. Veća koncentracija mikrobne populacije u rizosferi u odnosu na okolno tlo ukazuje da mikroorganizmi tla koriste ove korjenove spojeve kao izvor hraniva. Izazov je utvrditi koji, ako je ijedan, u širokom spektru kemijskih spojeva koji su dosada identificirani, dovoljno specifičan u privlačenju potencijalnih mikoriznih partnera.
Moguće je da su specifični korjenovi eksudati uključeni u ektomikorizno privlačenje, na što ukazuju pokusi u kojima su korišteni kompatibilni i inkompatibilni izolati mikoriznih gljiva *Pisolithus tinctorius* i *Paxillus ivnolutus*.

Poznato je da biljni hormon IAA može utjecati na grananje i rast hifa, međutim i dalje je malo navoda koji ukazuju na ikakvu specifičnost. Unatoč tome, korjenovi eksudati mogu stimulirati klijanje spora kod ektomikoriznih gljiva no često se isti učinak može dobiti korištenjem korjena biljaka koji inače nisu domaći ini (Smith i Read, 1996).
Dokazano je da se brzina i opseg formiranja mikoriza može pojačati pod nekim uvjetima radi prisustva bakterija koje pomažu mikorizama, što ukazuje na mogućnost da ključne kemijske spojeve za mikorizu otpuštaju i drugi organizmi osim same mikorizne gljive, u situaciji koja se stoga naziva mikorizosfera. Prisustvo bakterija koje potpomažu mikorizama prvi su put zabilježili Bowen i Theodorou (Tarkka i Frey-Klett, 2008) pri čemu je dokazano da prisustvo nekih bakterijskih izolata potiče, dok prisustvo drugih inhibira kolonizaciju korjena kalifornijskog bora *Pinus radiata* od strane gljive *Rhizopogon luteolus*.

Nakon inicijalnog privlačenja mikoriznih gljiva, čini se da su hife gljiva, stupajući u inicijalni kontakt sa korjenom, sposobne mijenjati smjer svojeg rasta. Tome ponekad slijede morfološke promjene koje prethode formiranju Hartigove mreže a uključuju grananje hifinih vrškova. U istraživanju provedenom na johi *Alnus crispa* sa gljivom *Alpova diplophoeus* (Smith i Read, 1996) utvrđeno je da se uspostavljanje mikoriza odvija unutar 2 do 4 dana od inicijalnog kontakta sa hifama gljiva. Pritom gljiva prvotno dolazi u kontakt sa vrškom korjena, od kuda se širi njegovom dužinom i unutar 24-48 sati dolazi do oticanja korjena. Tanki omotač počinje se formirati na lateralnom korjenu kroz 12-24h od inicijalnog kontakta. Područje početnog kontakta je ključno u uspostavljanju funkcionalne mikorize budući da se u ovom području hife iz omotača penetriraju korjen i počinju stvarati Hartigovu mrežu. U nekim slučajevima ovo se može odvijati i prije nego je omotač posve formiran oko korjena.

5. Arbuskularna mikoriza

Arbuskularne mikorize se tako nazivaju radi svoje specifične morfologije, a spadaju pod endomikorizne asocijacije, što znači da gljiva tvori organe unutar stanice korjena biljke domaćina. Arbuskularne mikorize, ili ponekad ovisno o literaturi vezikularno-arbuskularne mikorize, smatraju se najčešćim mikoriznim oblicima i ne stvaraju nikakve vidljive vanjske strukturalne promjene na korjenu biljke. Hife ovakvih mikoriza prodiru u korjenove stanice i to kod gotovo svih kultiviranih biljaka, kod većine cvjetnjača, papratnjača i mahovina te mnogog drugog šumskog drveća, grmlja i divljih vrsta (Paul i Clark, 1999), dok su odsutne kod biljaka koje tvore samo ektomikorize, dakle kod biljaka iz porodica *Pinaceae* i *Betulaceae* ili kod biljaka koje tvore erikoidne mikorize (Subba Rao, 1999).
Kod ovih asocijacija dolazi do formiranja unutarnjih organa, odnosno vezikula koje imaju spremišnu funkciju, i arbuskula, druge strukture unutar korteksa korjena. Arbuskule (Slika 5.1) su organi koje gljiva formira u korteksu korjena a koje se formiraju od fino razgranatih hifa koje ponešto nalikuju na haustorije prisutne kod nekih biljnih patogena. Ovi organi gljiva opstaju unutar biljne stanice između 4 i 10 dana te da nakon isteka njihovog životnog vijeka, biljna stanica ih probavlja te dolazi do formacije novih arbuskula u drugim biljnim stanicama.

Vezikule imaju tanke stijenke i ispunjene su lipidima koji se najčešće stvaraju u intercelularnim prostorima. Iako im je primarna funkcija skladištenje, one također mogu poslužiti i kao produktivne propagule. Osim vezikula i arbuskula, dolazi do formiranja sporednih stanica i aseksualnih spora (Sylvia i sur., 2005). Pomoćne stanice se stvaraju u tlu kao čvoraste ili namotane strukture te njihova uloga nije razjašnjena. Aseksualne spore se s druge strane formiraju ili u korjenu ili češće, u tlu, i to diferencijacijom vegetativnih hifa. Moguće je da se kod nekih gljiva spore formiraju sekundarnim zadebljanjem vezikula, nakon čega se tvori pregrada koja vodi stvaranju spora, međutim prvi mehanizam je puno češći.

Arbuskularne gljive su obligatni simbionti i nije ih moguće izolirati na čistoj kulturi već ih je jedino moguće uzgajati na živim inokuliranim biljkama, pri čemu biomasa korjena biljke na kojoj postoji znatna kolonija specifične arbuskularne gljive služi kao izvor inokuluma za daljnju kolonizaciju. Specifičnost između dvaju partnera u ovoj simbiozi nije dovoljno dobro utvrđena moguće je relativno jednostavno postići križnu inokulaciju sa nekim drugim domaćinom.

Gljiva u poļetnom stadiju kolonizacije raste izmeĽu biljnih stanica, meĽutim vrlo uskoro dolazi do penetracije staniļne stijenke nakon ļega se rast nastavlja unutar biljne stanice. Pritom i gljiviļna i biljna staniļna stijenka ostaju ļitave te tokom rasta gljive membrana biljne stanice se omotava oko gljive te dolazi do formiranja novog odjeljka gdje se skladiġti molekularno sloģen materijal.

Ovakav mehanizam sprijeļava direktni kontakt izmeĽu gljive i biljne citoplazme pa je moguĺ uļinkovitiji prijenos hraniva u apoplastu.

Prijenos hraniva izmeĽu biljke i gljive odvija se izmeĽu fino razgranatog micelija i staniļnih membrana biljke. Kod arbuskularne stanice je teģina biljnog citoplazmatskog materijala 20 puta veĺa nego u neinficiranoj stanici. Vanjske strukture kod ovih mikoriza su hife koje se granaju kroz tlo te klamidospore, individualne spore koje su u stadiju mirovanja a formiraju se nespolnim putem. Nekoĺ se za takve strukture u formativnom stadiju koje se nalaze na eksterijeru mikorize smatralo da su vezikule, meĽutim danas se zna da se radi o klamidiosporama.

5.1.Gljive koje tvore arbuskularne mikorize

Gljive koje sudjeluju u arbuskularnim mikorizama su gotovo uvijek iz reda *Glomales*. Dalje se taksonomija dijeli ovisno o tome da li su u korjenu prisutne vezikule i jesu li klamidiospore, odnosno aseksualne spore, formirane, te ovisno o tome da li su vezikule u korjenu odsutne i da li je doġlo do formacije pomoĺnih stanica i azigospora, odnosno sporama koje se nespolno razvijaju iz hifa gljiva i uzrokuju gomoljaste izrasline (Sylvia i sur., 2005).

Prisustvo arbuskularnih mikoriza nije moguĺe utvrditi golim okom. Za uspjeġnu identifikaciju i potvrĽivanje prisustva mikorize nuģno je da iskusna osoba, dobro upoznata sa strukturom, veliļinom i izgledom stijenki spora, promotri veĺi broj spora pod mikroskopom. Kod ovih mikoriza veliļina pojedinaļnih spora moģe biti izmeĽu 10 i 400µm u promjeru, ali najļeģće je to izmeĽu 10 i 200µm. TakoĽer treba slomiti spore kako bi se pregledala struktura stijenki. Poznato je da pet rodova sudjeluje u arbuskularnim mikorizama, a to *su Glomus, Gigaspora, Acaulospora, Sclerocystis* i *Scutellospora* a identifikacija se vrġi pregledom morforogije spora u stadiju mirovanja. Razlika izmeĽu navedenih rodova oļituje se u tome ġto se kod rodova *Gigaspora* i *Acaulospora* klijanje odvija kroz stijenke spora, dok su rodovi *Glomus* i *Sclerocystis* karakteristiļni po tome da do klijanja dolazi iz novog rasta priļ vrġĺenih hifa.

Do stadija mirovanja tipiļno dolazi ukoliko klijajuĺe spore rastuĺih hifa ne doĽu u kontakt sa prikladnim korjenom biljke domaĺina. U tom sluļaju dolazi do zastoja u rastu i spora kreĺe u mirovanje. Veĺina mikologa se slaģe da je smjer rasta hifa nasumiļan te zasada nije potvrĽeno da dolazi do ikakve poruke biljnog korjenja klijajuĺoj spori kako bi se ustanovio smjer rasta hifa, sve dok hifa veĺ nije u neposrednoj blizini (nekoliko mm) od korjena. Zatim hifa kreĺe u proizvodnju kompleksnih, lepezastih grana te dolazi do infekcije korjena (Paul i Clark, 1998).

5.2. Biljke domaćini

Arbuskularne imaju ģirok spektar potencijalnih domaĺina tako da preferiraju biljne zajednice sa velikom raznolikosti vrsta. Prisutne su u gotovo svim redovima biljaka te su gotovo jednako ļesto i kod monokotiledona i dikotiledona.

Trappe (Smith i Read, 1996) navodi da je samo 3% vrsta istraģeno te da da su naģa saznanja o mikoriznom statusu nekih rodova u najmanju ruku neiscrpna. Moģe se reĺi da okvirno 95% danaģnjih biljnih vrsta pripada porodicama koje tvore mikorize, no to ne znaļi da je jednaki postotak vrsta mikorizan, buduĺi da sve vrste odreĽenih porodica ne tvore mikorizne asocijacije. U svakom sluļaju, ono ģto se moģe reĺi sa sigurnoģću jest da ģto se viģe istraģivanja provodi i ģto se viģe biljnih vrsta ispituje, proporcionalno raste i broj biljnih vrsta za koje se ispostavlja da tvore mikorizne asocijacije.

Unatoļ tomu ģto najranije kopnene biljke nisu posjedovale pravo korjenje, na rizomima biljaka *Agalophyton* i *Asteroxylon* su pronaĽene mikorizne gljive koje su tvorile arbuskule, intercelularne hife i vezikule sliļne onima kakve tvore danaģnji pripadnici roda *Glomales*. Mnogo je fosilnih nalaza koji potvrĽuju postojanje arbuskularnih mikoriza, od kojih su neki stari ļak 410 do 440 milijuna godina.

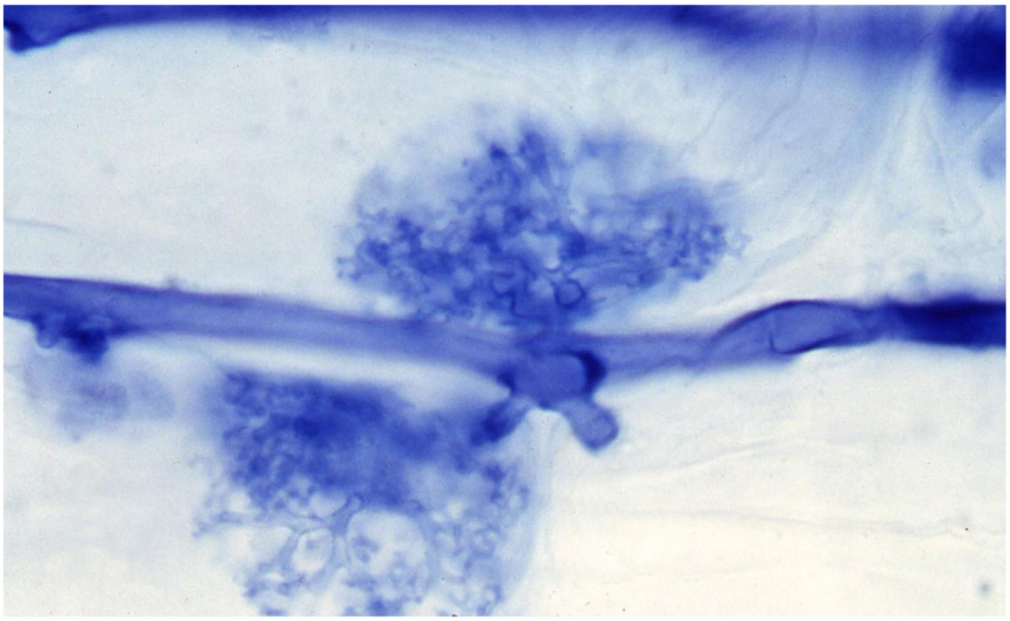
5.3. Morfologija i anatomija arbuskularnih gljiva

Smith i Read (1996) opisuju dva morfoloģko-anatomska tipa arbuskularnih mikoriza a to su Arum i Paris tip mikoriza.

Paris tip kolonizacije karakteristiļan je po tome ģto se intracelularni namotaji hifa razvijaju popriliļno ekstenzivno, na naļin da se direktno ģire iz jedne u drugu stanicu unutar korteksa. Staniļni rast, ukoliko ga ima, je malen, a arbuskule rastu iz navedenih namotaja.

Kod ovog tipa mikoriza brzina razvoja infekcije unutar korjena nije naroļito brza u usporedbi s Arum-tipom, te nije poznato koliko je ovo ļest tip mikoriza. Ovaj tip mikoriza prisutan kod velikog broja ġumskih biljaka.

Arum tip kolonizacije je ono ġto Ími danas prepoznati kao tipiļne arbuskularne mikorize. Autori takoĽer navode da je kod ovog tipa mikoriza ļest brzorastuĺi korjenov sustav kod usjeva te da je za ovaj tip karakteristiļno da se putem intercelularnih hifa, koje se proteġu kroz zraļne prostore u stanici, gljiva brzo ġiri korteksom. Hifa proizvodi kratke, postrane grane, dolazi do ulaska u kortikalne stanice te dolazi do formiranja arbuskula.



Slika 5.1. Obojen korjen Vitis vinifere na kojemu je vidljiva arbuskula, specijalizirana intracelularna struktura koju formira grananje gljivičnih hifa koje penetriraju kortikalne stanice korjena, ujedno glavno mjesto recipročne izmjene hraniva između dvaju simbionata
(Izvor: Trouvelot i sur., 2015.)

5.4. Tijek kolonizacije

Za kolonizaciju korjenovog sustava bitan je razvoj i korjena i gljive ġto cijeli proces ļini dinamiļnim. Za vrijeme apikalnog rasta korjena putem diobe stanica, elogancije i diferencijacije dolazi do razvoja lateralnih korjeļniĺa dok istovremeno gljiva proizvodi primarne i sekundarne strukture koje inficiraju korjen a ļija brzina rasta direktno utjeļe na infekciju.

Korjen moġe doĺi u kontakt sa gljivom putem spora (koje posjeduju ġirok spektar metoda rasprġivanja, primjerice putem vode ili zraka), zaraġenih djeliĺa korjena ili putem hifa odnosno propagula. U tlu nalazimo na spore razliļitih oblika i veliļine i naravno u razliļitim

stadijima mirovanja ï na taj naļin osigurava se konstantan izvor inokuluma u tlu. Iako se godinama smatralo da su spore najvaćniji izvor infekcije, pokazalo se da spore nisu nućno vaćne u najranijim stadijima kolonizacije korjenovog sustava.
Ispostavilo se da su, unatoļ tome ćto su spore najbolji izvor inokuluma, zapravo prethodno zaraćeni djeliĺi korjena i ekstenzivne hifne mreće glavno sredstvo kolonizacije biljaka ļak i onda kada je prisutna viće nego dostatna populacija spora u tlu.

Nakon ćto se gljiva probije kroz vanjski zid epidermalnih stanica nakon dva do tri dana dolazi do stvaranja apresorija, ćto ukazuje na to da je gljiva prepoznala biljku kao domaĺina te dolazi do sućavanja hife gljiva kako bi se formirala infekcijska klica. Za stupanje u kontakt sa biljkom domaĺinom odgovorne su hife velikog promjera koje se probijaju kroz epidermalne stanice biljke. U ovom stadiju gljiva poļinje lokalizirano izluļivati hidrolitske enzime koji degradiraju stijenku te istovremeno vrćak hife vrći hidrostatski pritisak na stanicu. U ovoj fazi biljka domaĺin prepoznaje gljivu, ćto je vidljivo iz odebljanja epidermalne stijenke koja se nalazi uz penetrirajuĺu hifu. Mnogi autori dokazali su da dolazi do promjena u strukturi biljnih lamela kada hife doĽu u intercelularni prostor te je dokazano djelovanje gljivińnog enzima pektinaze (Smith i Read, 1996).

Nakon formiranja apresorija slijedi grananje hifa te one ulaze u srediśnji i unutraśnji dio korteksa biljke i zatim nastavljaju svoj rast u meĽustaniļnom prostoru. Grane hifa omoguĺuju rast arbuskulama, priļemu se najstarije arbuskule nalaze najbliće mjestu infekcije. Nakon ćto grane hifa uĽu u biljnu stanicu kako bi se formirao glavni dio arbuskule, plazmatska membrana nastavlja svoj rast a grane hifa rastu uokolo. Zasada nije poznato zaćto je ćivotni vijek arbuskula tako kratak buduĺi da niti jedna od teorija nije dokazana, no najvjerojatnijim se ļini da ju biljna stanica probavi.
Kako prolazi tijek infekcije, dolazi do stvaranja vezikula, ovisno o vrsti gljive u pitanju buduĺi da svi rodovi ne proizvode vezikule, kao ćto su primjerice rodovi mikoriznih gljiva *Scutellospora* i *Gigaspora*. Velike koncentracije fosfora u tlu inhibiraju rast vezikula iz ļega se moće sa sigurnoćĺu zakljuļiti da su okoliśni uvjeti vaćni za razvoj ovih mikoriznih struktura.

Nakon inicijalnog kontakta i nakon ćto je zapoļet rast hifa unutar korjena, vanjske hife postaju vaćan izvor inokuluma za daljnji tijek kolonizacije korjenovog sustava. Buduĺi da su

zahtjevi za organskim ugljikom iz tla veliki, tako rastu potrebe za velikom gustoćom spora u tlu, što je osim za prijenos ugljika također važno i za respiratorne procese i dalji rast gljive.

Nakon toga dolazi do ubrzanog rasta vanjskog micelija, koji sa rastom ne prestaje sve dok infekcija korjena već nije u tijeku. Vanjski micelij kreće u proizvodnju spora i, između ostalog, dolazi do povećane translokacije ugljikohidrata što posljedično dovodi do povećane biomase gljive van samog korjenovog sustava, međutim neki autori navode da gljiva proizvodi veću količinu spora pri kraju sezone rasta nego na na početku, te da je i na terenu i u laboratorijskim uvjetima dokazano da na proizvodnju spora utječe vrsta biljke domaćina. Pritom četiri vrste gljiva iz roda *Glomus* i jedna iz roda *Gigaspora* uzrokuju slabiju proizvodnju spora kod biljaka iz roda *Glycine* i da svaka gljiva sporulira u različitim razmjerima na biljkama domaćinima iz rodova *Zea*, *Paspalum* i *Sorghum*.

6. Mikorize prisutne kod roda Ericales

6.1. Arbutoidne i monotropoidne mikorize

Arbutoidne mikorize su karakteristične po prisustvu i endo i ektomikoriza, što znači da može doći do formiranja Hartigove mreže i vanjskog omotača ali i da može doći do unutarstaničnog prodora. Kod arbutoidnih mikoriza dolazi do stvaranja hipodermisa u vanjskom sloju kortikalnih stanica korjena i spriječavaju prodiranje Hartigove mreže u dublje slojeve. Većina autora navode da arbutoidne gljive koje tvore arbutoidne mikorize spadaju u bazidiomicete, da je razlog tome strukturalna sličnost sa ektomikorizama te da uistinu tvore i ektomikorize. Iz istraživanja provedenog (Smith i Read, 1996) na 28 ektomikoriznih gljiva, od kojih su njih 3 formirale arbutoidne mikorize u kontaktu sa drvetom *Arbutus menziesii* i medvjetkom, *Arctostaphylos uva-ursi,* može se zaključiti da biljka ima značajnu ulogu u razvoju mikoriza na način da ima sposobnost regulirati pojavu različitih gljivičnih struktura. U prilog tomu idu i ranija istraživanja također provedena na *Arbutus menziesii* i *Arctostaphylos uva-ursi*. Ovaj tip mikoriza je osim na rodovima *Arctostaphylos* i *Arbutus*, također nađen i na nekim vrstama iz porodice *Pyrolaceae* no glavna razlika između arbutoidnih i ektomikoriza je u tome što kod arbutoidnih mikoriza hife penetriraju vanjske kortikalne stanice i ispunjavaju ih svojim a to se kod ektomikoriznih asocijacija ne događa.

Monotropoidne mikorize se odvijaju na porodici *Monotropaceae* reda *Ericales*, po čemu su i nazvane. Dugo se smatralo da se zapravo radi o arbuskularnim mikorizama međutim kod monotropoidnih mikoriza gljiva ne prodire u biljnu stanicu te je to bilo dovoljno za zasebnu klasifikaciju. Specifičnost ove biljne porodice je u tome što niti jedan od 10 rodova ne sadrži klorofile i nisu u mogućnosti samostalno proizvoditi nužne ugljikohidrate pa u tu svrhu koriste mikoriznu asocijaciju sa gljivom.
Iste gljive tvore i ektomikorizne asocijacije sa obližnjim drvećem te na taj način tvore kariku putem koje se ugljik i ostali hraniva prenose iz autotrofnog domaćina do heterotrofne parazitske biljke (Sylvia i sur., 2005).

Monotropoidne mikorize najčešće nalazimo u šumama bora i ostalih četinara, te zajedno sa monotropoidnim biljkama tvore čvrsto povezane zajednice za koje su potrebne značajne koncentracije organskog ugljika. Gljivični ogrtači koji nalazimo oko korjenja monotropoidnog bilja sastoji se od više slojeva između kojih se nalaze nakupine tanina. Hartigova mreža

obuhvaća vanjski vanjski epidermalni sloj ali ne ulazi u korteks biljke već jedna hifa raste u stanicama epiderme.

6.2. Erikoidne mikorize

Kod ovog tipa mikoriza stanice unutrašnje kore postaju ispunjene hifama, te iako hife dalje rastu preko površine korjenja, ne dolazi do stvaranja pravog omotača (Sylvia i sur., 2005). Erikoidne mikorize su nazvane po vrstama iz porodice *Ericaceae* te se smatraju ekološki najznačajnijim tipom mikorize.

Prilikom rasta korjena dolazi do diferencijacije epidermalnih stanica a hife koriste tu priliku za kolonizaciju korjena i dolazi do usporavanja njegovog rasta. Slijedi prodiranje hifa u epidermalne stanice, tipično samo na jednom spojnom mjestu, a ponekad dolazi do stvaranja apresorija. Točan mehanizam ulaska hifa u epidermalnu stanicu je nepoznat.

Erikoidne mikorize nalazimo na rodovima *Calluna, Rhododendron* i *Vaccinium*, odnosno na biljkama koje karakteriziraju vrlo fini korjenovi sustavi te koje dosta dobro uspjevaju na kiselim tlima dok gljive koje sudjeluju u ovom tipu mikoriza pripadaju rodu *Hymenoscyphus.*

Erikoidne mikorize često nalazimo na tlima sa niskim sadržajem dostupnih hraniva te se može logično zaključiti da biljke uspješan rast na ovim područjima uvelike duguju upravo asocijacijama sa erikoidnom gljivom. Pritom je moguće da mikorizna kolonizacija omogućava biljci pristup organskim izvorima dušika, na što ukazuje studija provedena na biljkama iz roda *Vaccinium* koje su uzgajane sa i bez kolonizacije sa gljivom *Hymenoscyphus ericae*. Nakon introdukcije NH_4^+ u tlo, rezultati su pokazali da je dušik stimulirao razvoj koloniziranih biljaka (Smith i Read, 1996.). Također je dokazano da gljiva *H. ericae* može koristiti proteine kao jedini izvor dušika. Usporedba koncentracija fosfora u tkivu erikoidnih biljaka koje su uzgajane sa i bez mikorize pokazale su da gljive mogu poboljšati pristup biljke ovom elementu, te također pristup dušiku, što ukazuje na značaj erikoidnih mikoriza, naročito na područjima na kojima je tlo siromašno hranivima kao što su primjerice stepe i ravnice.

7. Ekološki značaj i primjena mikoriznih gljiva u voćarskoj proizvodnji

Vrlo je mali broj biljnih vrsta koje ne uspostavljaju simbiotske odnose sa mikoriznim gljivama, iz ļega je jasno da mikorize imaju neizostavnu ulogu u rastu i razvoju biljaka, ģto je vaģno za ekonomsku isplativost proizodnje (Vukadin, 2014). Micelarne mreģe su u stalnom molekularnom kontaktu s okoliģem. Ģire se i na tisuĺe hektara u tlu te postiģu najveĺu masu ijednog ģivuĺeg organizma na planeti.

Ekoteoreiļari James Loveloc i Lynn Margulis osmislili su takozvanu ñGaja hipotezuò prema kojoj je planetarna biosfera inteligentno razvila micelij kao ģivuĺu mreģu koja manifestira prirodnu inteligenciju. Prema ovoj teoriji, dok planinari, jeleni, insekti i ostala ģiva biĺa hodaju po tim osjetljivim mreģama, oni ostavljaju tragove koje micelij detektira i na njih ima sposobnost reagirati (Stamets, 2005).

Rastuĺi zahtjevi za organskim uzgojem podrazumijevaju racionalno gospodarenje resursima, pri ļemu je glavni cilj sve manja upotreba kemijskih sredstava za zaģtitu i mineralne gnojidbe (Druģliĺ Orliĺ, 2004). Kao ģto je veĺ navedeno, gljive vrģe razne uloge u tlu: sluģe kao izvor hrane, kao razlagaļi organske tvari, svojim ģirenjem i rastom rahle tlo pri ļemu direktno utjeļu na njegovu strukturu, te ono ģto je najbitnije za ovaj rad, tvore simbiozne asocijacije sa korjenjem viģih biljaka pri ļemu omoguĺavaju ne samo opstanak, veĺ i razvoj biljaka u inaļe za njih nepovoljnim uvjetima.

Opseģni fosilni nalazi potvrdili su postojanje arbuskularnih mikoriza na najranijim biljkama koje nisu tvorile pravo korjenje, ģto znaļi da su mikorize tvorile vaģnu, ako ne i kljuļnu kariku u prvotnom ģirenju bilja kopnom.

Sve donedavno se mikoriznim asocijacijama nije pridavala velika paģnja, meĽutim sve veĺi broj istraģivanja potvrĽuje pozitivan uļinak mikoriza u smanjenu gubitka hraniva iz tla.

Kroz kompleksnu strukturu dijeljenja informacija, osjetljive micelarne membrane, koje nalikuju na moģdane neuronske mreģe, sluģe kao kolektivna gljiviļna svijest prirode (Stamets, 2005).

Ideja da staniļni organizam moģe posjedovati inteligenciju pokazuje studija koju Stamets (2005). U petrijevku ispunjenu hranjivim agarom postavljen je labirint te su na ulaz i na kraj labirinta postavljene ģitarice kao izvor hrane. Zatim je labirint inokuliran kulturom *Physarum*

polycephalum pod sterilnim uvjetima ï kako je kultura rasla tako je kroz labirint uzastopno izabirala isključ ivo najkrać e rute ka ć itarici, pritom izbjegavajuć i slijepe ulice, č to ukazuje na prisustvo određenog oblika inteligencije.

Daljnje studije podupiru mogućnost da se gljive mogu programirati kao kolektivna okolišna baza podataka. Tako Stamets (2005) navodi istraživanje tokom kojeg se manipulirao micelij gljive *Aspergilus niger* da usvoji zlato u svoj DNK, i na taj način napravili micelarne vodiče sa elektroničkim potencijalom. NASA također prijavljuje da su mikrobiolozi sa Sveučilišta u Tenesseeju, predvođeni Garyjem Saylerom, razvili primitivni biološki kompjuterski čip koji sadrži bakterije koje svijetle nakon što detektiraju polutante kao što su teški metali. Ovakve studije koje donose nove biotehnologije pokazuju rastuću važnost i ogroman potencijal u iskorištavanju ovih organizama u ekološke i poljoprivredne svrhe, primjerice kao bioindikatori onečišćenja i teških metala.

7.1. Uloga mikoriznih asocijacija u različitim ekosustavima

Već i mikorizni tipovi su u prirodi rasprostranjeni ovisno o biomu te geografskom i biotskom okolišu. Za ravnice je karakterističan erikoidni mikorizni tip, za šume sjeverno-umjerenog pojasa ektomikorize a za pašnjake i tropske šume karakteristična je kombinacija arbuskularnog i ektomikoriznog tipa asocijacija. U svakom od tih okolišnih uvjeta mikoriza ima multifunkcionalnu ulogu ovisno o zahtjevima pojedinog ekosustava.
Arbuskularne mikorize su dominantne u tropskim biomima te u nekim šumskim sustavima umjerenog pojasa. Iako su biljke iz porodice *Pinaceae* najčešć e ektomikorizne, već ina drugih gimnosperma tvore arbutoidni tip mikoriza.
Postoje naznake da arbuskularne gljive imaju blagi kapacitet za saprofitskim rastom u tlu no uzgoj arbuskularnog micelija odvojenog od spora je dosada bio neuspješan pa su potrebna dodatna istraživanja na ovu temu.
Studije o mehanizmu kolonizacije arbuskularnom gljivom su važne za proizvodnju sadnica i preparativne tehnologije za uspješnu obnovu bolesnih ili oštećenih biljaka jer biljne vrste pokazuju različitu ovisnost o arbuskularnom mikoriznom tipu.

Upravljanje mikorizama je često bolja opcija nego mikorizna inokulacija radi problema i troškova proizvodnje velike količine inokuluma. Mudro upravljanje dobrima ekosustava i

upravljanje vrstama od ekonomske vaġnosti koje imaju veliki potencijal za obnavljanje tala koja su siromaġna hranivima, mogu spriješiti produbljivanje siromaġtva. (Smith i Read, 1996)
Iz navedenih istraġivanja i dosadaġnjeg prouśavanja mikoriznih asocijacija je vidljiva neopisiva korist i bogatstvo kakvo ovi mikroorganizmi predstavljaju u borbi za okoliġ i ekosustav te u borbi protiv oġteśenja i ġtete izazvane ljudskim djelovanjem.

7.2.Gubitak hraniva ispiranjem

Otprilike polovica hraniva unesenih u tlo putem mineralnih gnojiva zavrġi u usjevima, ġto znaś i da postoji velika vjerojatnost da se ostatak gubi. Naroś ito mobilna hraniva poput nitrata (NO_3^-) i sulfata (SO_4^{2-}) mogu vrlo lako mogu biti isprana ispod zone korjenja, no i nepokretna hraniva kao ġto su fosfor, kalij i cink su takoĽer podloġna ispiranju i to u erozivnim procesima kada su vezani za organsku tvar ili koloide tla te ukoliko su nataloġeni na organomineralnim kompleksima i kelatima.
Cavagnaro i sur. (2015) navode da gubici hraniva ispiranjem mogu iznositi śak 160 kg duġika i do 30 kg fosfora godiġnje po hektaru. Na taj naś in moġe izgledno doś i do kontaminacije tla putem vode i vodnih sustava ġto dalje vodi ka eutrofikaciji, masovnom razmnoġavanju algi te gubitku kopnene i vodene bioraznolikosti. Duġik se takoĽer moġe gubiti iz tla putem emisija u plinove N_2O i N_2 i to u koliś inama koje mogu doseś i i do 143 kg N/ha, makar toś ne koncentracije variraju od studije do studije.

Buduś i da se hife gljiva arbuskularnog tipa mikorize ġire u tlu dalje nego ġto prodire korjenje biljaka te dalje od nutritivno deficitarne zone do kakve dolazi u neposrednoj blizini korjena, gljiva je sposobna upijati hraniva iz veś eg volumena tla te time pomaġe biljci usvajati fosfor, cink, amonijak, nitrat, bakar i kalij; primjerice śak je 90 % biljnog fosfora i 20 % duġika usvojeno upravo putem arbuskularne gljive. Iz navedenih se podataka moġe zakljuś iti da gljive arbuskularnog tipa mikorize mogu smanjiti rizik gubitka hraniva putem njihove poboljġane imobilizacije u usporedbi sa nemikoriziranim biljaka, ili putem mijenjanja procesa kruġenja hraniva i vode u tlu tako da poboljġavaju njihovo zadrġavanje u tlu.
Ovakvi gubici mogu biti ġtetni za okoliġ i skupi u pogledu izgubljenih prinosa. Biljke su evoluirale mnoge osobine u svrhu optimizacije usvajanja hraniva, uklju ujuś i formaciju simbioze sa arbuskularnom gljivom. Sve je viġe studija koje dokazuju da arbuskularni tip mikorize ima sposobnost reducirati gubitak hraniva iz tla putem poveś anja intercepcijske zone oko korjena i spriješavati ispiranje hraniva nakon kiġe (Cavagnaro i sur., 2015).

7.3. Ekološka važnost mikoriznih asocijacija

U tlu se događa proces ispiranja, odnosno drenaže vode koja sadrži otopine iz tla putem djelovanja filtracije i cijeđenja.
U tom procesu dolazi do gubitka znatnih količina hraniva, zajedno sa gubitkom putem plinskih emisija. Ovakvi gubici su štetni u ekološkom ali i u poljoprivrednom i ekonomskom smislu kroz smanjene prinose. U takvim situacijama prisustvo arbuskularnog mikoriznog tipa je biljni evolucijski pokušaj optimizacije gubitka hraniva.

Cavagnaro i sur. (2015) su u svojem istraživanju obradili načine na koje arbuskularne gljive imaju sposobnost smanjiti te gubitke putem povećanog biljnog usvajanja hraniva i putem sprječavanja njihovih gubitaka nakon kišom uzrokovanog ispiranja.
Mikorizne gljive se sve više prepoznaju kao ključne vrste koje stvaraju gušće slojeve tla i time omogućavaju rast i razvoj budućih generacija biljaka i životinja bez kojih ne bi bilo ekosustava.

Stamets (2005) u svojem dugogodišnjem radu s mikoriznim gljivama tvrdi da se micelij može selekcionirati i koristiti za razgradnju toksičnog otpada prije njemu ga razgrađuje na bezopasne metabolite, te je svoje tvrdnje dokazao upotrebom micelija za pročišćenje izljeva nafte. Ovakva ekološka korist ne može se preuveličati. Autor također navodi upotrebu micelija u filtraciji vode te u neutralizaciji štetočina kao što su termiti i vatreni mravi.
Nekoliko je načina na koje su mikorizne gljive korisne i upotrebljive u ekološkom kontekstu: kroz mikošumarstvo, mikosanaciju, kao mikopesticidi te u zaštiti okoliša.
Mikošumarstvo navodi kao upotrebu gljiva u očuvanju prirodnih šuma, u oporavku i recikliranju šumskog otpada te poboljšavanju kvalitete presađenog drveća. Mikosanacija se odnosi na upotrebu gljiva za razlaganje ili odstranjivanje toksina iz tla a temelji se na sposobnosti gljive da razlaže razne molekule.

Biljke ovisne o arbuskularnim mikoriznim asocijacijama, poput biljke *Eremanthus icanus,* pokazuju velik potencijal u obnavljanju oslabljenih tala (Pagano, 2012). Na isti način gljive obećavaju kao razlagači teških metala iz tla koristeći sporokarp za skladištene usvojenih teških metala, koji se kasnije može jednostavno odstraniti.

Gljiva može direktno denaturirati toksine kao što su derivati petroleja te sekundarno putem apsorpcije teških metala i na već opisan način kanaliziranja istih u svoj sporokarp. Kada micelij shiitake gljiva biva izložen teškim metalima, dolazi do dekolorizacije toksičnih boja prilikom koje se teški metali apsorbiraju, što ukazuje na korist mikofiltracije kod tretiranja kompleksnih otpada. Gnojiva, pesticidi, herbicidi, tekstilne boje i ljekovi na bazi estrogena su redom podložni enzimima kakve proizvodi gljivični micelij.

Kao mikopesticidi se mogu koristiti mikorizne gljive iz roda *Metarhizium*, naročito *Metarhizium anisopilae*, gljive iz roda *Beauveria* te neke vrste iz roda *Paecilomyces*. Nakon što spore navedenih gljiva dođu u dodir sa insektom, spore se prianjaju na insekte i tamo klijaju te prodiru kroz egzoskeleton koristeći enzime koje razgrađuju hitin. Također hifa ulazi kroz respiratorni trakt, anus i usta. Jednom kada uđe u organizam insekta, micelij se grana i raste kroz unutrašnje organe gdje uzrokuje slabost, nekrozu te naposlijetku smrt (Stamets, 2005).

Stočne farme proizvode velike količine fekalnih otpadnih voda koje naposlijetku završavaju u vodnim tokovima te su onečišćenje streptokokima, bakterijom *Escherichia coli* te raznim amebnim parazitima i virusima velik rizik. Pritom se podižu toksične razine cinka i bakra, no istraživanja provedena u Sjevernoj Karolini su pokazala da gljiva *Aspergillus niger* uklanja 91% bakra i 70% cinka iz otpadnih voda.
Stamets (2005) navodi da gljive koje sadrže melanin koriste radijaciju kao pomoć u rastu svojih stanica, analogno s načinom na koji biljke koriste klorofile. Otkriveno je da ionizirajuća radijacija poboljšava rast nekoliko vrsta melaninom bogatih gljiva, što ukazuje na mogućnost generiranja gljive za hranu prigodnu za svemirska putovanja i da gljive mogu rasti i na drugim planetima bez prisustva sunčeve svjetlosti.

Teški metali, kao cink, bakar, olovo, živa i kadmij najčešći su i najopsaniji anorganski okolišni onečišćivači. Rastući broj dokaza sugerira da mikorizne gljive mogu smanjiti toksičnost metala u biljkama. Ektomikorizna gljiva *Tuber borchii Vitt*. (Sabella i sur., 2016), široko rasprostranjena u Italiji, od velikog je ekološkog interesa radi mutualističkih asocijacija i prednosti koje ima za biljku domaćina.
Sadnice mediteranskog grma divljeg pelina, *Cistuc creticus* L., mikoriziranog i nemikoriziranog su tretirane sa teškim metalima (cink, olovo i krom). Teški metali su

uzrokovali klorozu lišća kod nemikoriziranih sadnica dok nikakva značajna razlika nije opažena u pigmentaciji lišća mikoriziranog lišća.
Smanjenje pigmentacije lišća opaženo kod tretiranih, nemikoriziranih sadnica je značajno korelirало sa smanjenom izraženošću ključnih gena povezanih sa biosintezom klorofila; umjesto toga, nikakva značajna varijacija u ekspresiji gena nije detektirana kod mikoriziranih sadnica tretiranih sa teškim metalima.
Ova studija pokazuje da oštećenja u DNK izazvana stresom teških metala je bila niža kod mikoriziranih nego kod nemikoriziranih sadnica što potvrđuje korist mikoriznih asocijacija u borbi i sa ovom vrstom stresa za biljku.

7.4. Uloga arbuskularnih mikoriza u smanjenju gubitaka fosfora i dušika

Budući da gljive sintetiziraju glutamin i reduciraju nitrate, sposobne su usvajati dušik u tri oblika: kao NO_3^-, NH_4^+ te kao aminokiseline, te utječu na transformaciju i ciklus kruženja N u tlu. U usporedbi sa dušikom fosfor je u tlu relativno nepokretan i generalno je mala količina P u tlu biljci dostupna.

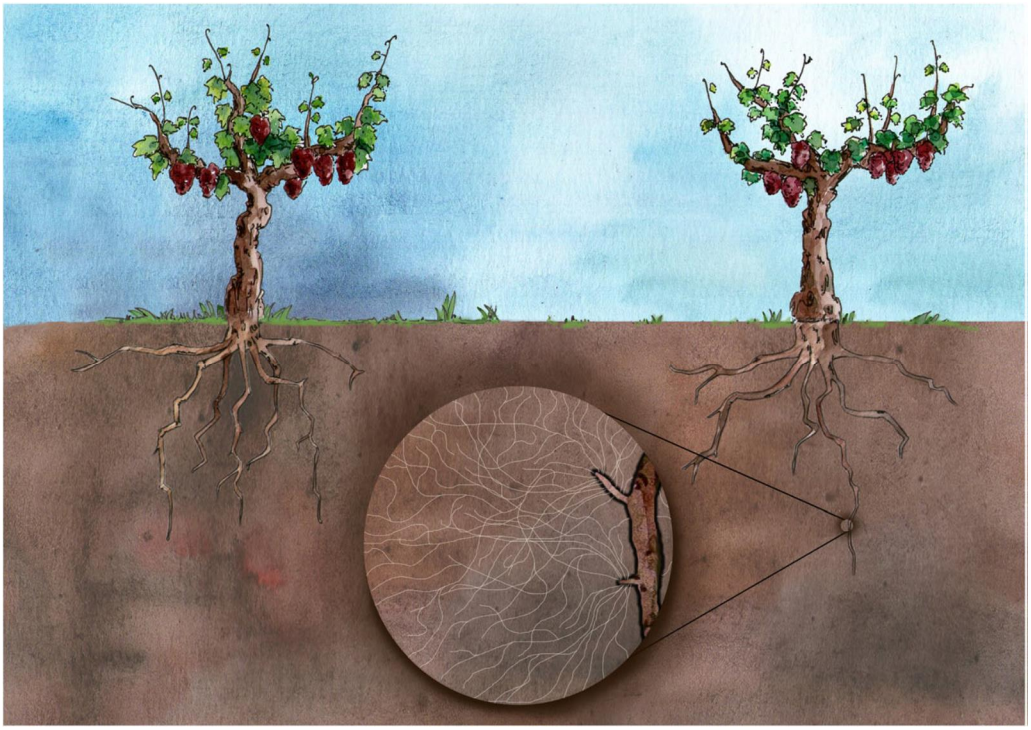
Čak je 90% P iz tla biljci nedostupno, što uslijed filtracijskih reakcija tla, što putem sorpcije organskih i mineralnih čestica. Iz tog razloga veći ina poljoprivrednika obilno aplicira fosforna gnojiva u usjeve, no P je i dalje biljci dostupan u maloj količini i stvara se začarani krug i dolazi do gomilanja i akumulacije velikih koncentracija P u tlu.
Arbuskularne gljive su dobro poznate po svojoj sposobnosti da poboljšaju usvajanje P i da smanjuju anorganske gubitke do kakvih dolazi putem ispiranja jer mogu nakupiti velike količine fosfora. Indirektno utječu na njegovo otjecanje sa površine biljke stimulirajući usvajanje, što se može pokazati osobito važnim kod pjeskovitih tala koja su po svojoj strukturi vrlo podložna procesima ispiranja, te kod poljoprivrednih površina koje zahtijevaju opsežno navodnjavanje.

Također se mogu pokazati korisne u nasadima na kojima se koriste fungicidi, fumiganti te nemikorizni usjevi budući da takve prakse drastično smanjuju inokulumski potencijal tla. Iako je gubitak P putem ispiranja manji nego što je gubitak N, čak i male količine mogu imati snažan učinak na okoliš budući da se fosfor koji ulazi u vode smatra glavnim uzrokom eutrofikacije (Cavagnaro i sur. 2015).

7.5. Uloga mikoriza u usvajanju hraniva te rastu i razvoju biljke

Širok je spektar koristi koje biljka ima od uspostave asocijacija sa mikoriznim gljivama. Gljive potpomažu bolje usvajanje hraniva što direktno utječe na bolji opstanak te brži rast i razvoj biljke, povećavaju otpornost na bolesti, štetočinje i abiotske stresove.
Navedene koristi potvrđuju mnoge studije. Primjerice, u studiji koju su proveli Ban i sur. (2011) mikorizna inokulacija povećala je dužinu stabljike lubenice te broj lateralnih grana. U usporedbi sa nemikoriziranima, mikorizirane biljke imale su viši prinos te već i ranije plodonošenje. Mikorizna inokulacija povećala je ukupni prinos ali nije utjecala na težinu samih plodova. Dalje, Waters i sur. (2008) u svojoj studiji navode da bi infekcija sa erikoidnim gljivama mogla biti važna za proizvodnju borovnica budući da se pokazalo da mikoriza potencijalno povećava efikasnost uporabe gnojiva i povećava prinos bobica. Ovime se postižu ekonomske koristi od mikorizne asocijacije u vidu financijskih ušteda, s obzirom na smanjenu potrebu upotrebe gnojiva te ekološku dobrobit radi smanjenog unošenja kemijskih gnojiva u tlo.

Micelij dramatično povećava biljno usvajanje hraniva i to esencijalne elemente kao što su fosfor, bakar i cink na način da povećava područje usvajanja hraniva biljke. U svojem grananju, jedna biljna vrsta može povezati kilometre šumskog tla u kontinuiranoj mreži (Slika 7.1). Kao rezultat poboljšanog usvajanja hraniva biljni rast je ubrzan te biljke koje tvore mikorize bolje podnose bolesti. Pritom gljiva iz asocijacije izvlači korist jer ima pristup šećerima koje izlučuje biljka a koji su uglavnom heksoze koje gljiva pretvara u manitole, arabitole i eritrole (Stamets, 2005).



Slika 7.1. Razgranate hife mikoriznih gljiva uvelike povećavaju volumen istraženog tla što omogućava biljci bolji pristup hranivima i vodi
(Izvor: Trouvelot i sur., 2015)

Uz mikorizne gljive moġe se koristiti i ko-inokulacija sa bakterijama promotorima rasta. Takva praksa rezultira poveĺanom razvoju cvjetova i plodova kod jagode, plodovi dobivaju na veliļini, sadrġe viġe koncentracije ġeĺera u odnosu na nemikorizirane jagode te takoĽer sadrġe veĺe koliļine askorbinske i foliļne kiseline. Mikorizne gljive utjeļu na kvalitetu usjeva i pokazuju te rezultate ļak i pod uvjetima smanjene kemijske gnojidbe. Navedeno potvrĽuju Bona i sur. (2014) koji su dokazali da simbioza s arbuskularnom gljivom utjeļe na biljnu biosintezu hormona te na metabolizam biljke. Uļinci arbuskularne simbioze zapaġeni su ne samo kod koloniziranog korjenovog sustava veĺ i kod povrġinskih dijelova biljke, poput liśĺa, cvijeĺa i plodova.

Kod voĺnih usjeva, kolonizacija arbuskularnim gljivama stimulira rast, pojaļava fotosintezu, inducira raniju cvatnju i plodonoġenje te poboljġava kvalitetu prinosa
. Rizosferne interakcije pozitivno utjeļu na kvalitetu tla te se mogu eksploatirati u svrhu poveĺanja prinosa, redukcije kemijske primjene i razvitka uļinkovitih oblika odrġive poljoprivrede.

Arbuskularne gljive same, ili u kombinaciji sa bakterijama promotorima rasta (*Pseudomonas sp.*) mogu utjecati i na koncentraciju antocijana u plodovima jagode ļak i pri reduciranoj gnojidbi.

Ovakva ko-inokulacija mikorize sa bakterijama pozitivno je utjecala na raniju cvatnju i plodonoġenje. Arbuskularne gljive su prethodno pokazale da mijenjaju biljnu reproduktivnu fiziologiju, induciraju raniju cvatnju, te osim produġenog perioda cvatnje, takoĽer poveĺavaju broj cvjetnih pupoljaka i plodova.

Plodovi inokuliranih biljaka pokazuju veĺu ukupnu koncentraciju ġeĺera, pa samim time i indeksa slatkoĺe, u odnosu na kontrolu.. Plodovi imaju viġu koncentraciju askorbinske (vitamin C) i folne kiseline ļak i pri reduciranoj gnojidbi ġto ukazuje da standardna gnojidba premaġuje zahtijeve biljke.

Opĺenito plodovi su zdraviji (radi veĺe koncentracije vitamina), ukusniji (radi veĺe koncentracije ġeĺera) i sadrġe viġe antocijana. Veĺi sadrġaj ġeĺera je takoĽer interesantan u proizvodnji dġemova i sokova ġto poveĺava komercijalnu vrijednost voĺaka zajedno sa poveĺanim prinosom i ļini mikorize interesantnima ne samo kod uzgoja voĺa za uporabu u svjeġem stanju veĺ i za razne preraĽevine. Posebno obzirom da su biljke postigle takve rezultate pod uvjetima reducirane gnojidbe, ġto vodi ekonomskoj, ekoloġkoj i koristi za zdravlje ļovjeka (Bona i sur., 2014).

Korist mikoriznih asocijacija vidljiva je i za vitikulturu. Trouvelot i sur. (2015) tvrde da arbuskularni tip mikoriza pozitivno utjeļe na rast vinove loze i usvajanje hraniva putem boljeg pristupa i aktivacijom regulacije transporta proteina za fosfor, duġik i druge elemente. Arbuskularne mikorize poveĺavaju toleranciju na abiotske stresove kao ġto su vodni stres, zaslanjenost tla, kloroza i toksiļnost teġkim metalima. Ġtite od biotskih stresova kao ġto su bolesti korjena te proizvode glikoproteine i guste mreġe hifa koje poveĺavaju stabilnost tla i ġtede hraniva tla, i sve to za 14% od ukupnog budġeta koji je bio potreban za proizvodnju nemikoriziranog groĺa.

Mikorizne asocijacije su se pokazale uspjeġnima i na terenskim uvjetima ġto dokazuje studija tokom koje se ispitivala uloga arbuskularnih mikoriza na rast i usvajanje hraniva kod rajļice (*Solanum lycopersicum* L.) pri terenskim uvjetima.

Dobiveni rezultati pokazali su da razvitak arbuskularne mikorize znaļajno poveĺava rast biljaka i usvajanje hraniva ukljuļujuĺi NO_3^- nedavno apliciranog u tlo. Korjenje i arbuskularne mikorizne gljive imaju vaġnu ulogu ne samo u usvajanju hraniva od strane biljke

nego i u kruženju dušika u ekosistemu (Cavagnaro, i sur., 2012). Kod rajčice se također ispitivao učinak mikorize na ekonomski relevantnu fiziologiju ploda. Mikoriza je ubrzala cvatnju i razvoj ploda i povećala prinos. Geni uključeni u metabolizam dušika i ugljikohidrata zaslužni su za regulaciju i transdukciju signala kod uspostavljanja mikorize. Mikoriza povećava obilje aminokiselina u plodovima, pri čemu su glutamin i aspargin aminokiseline na koje mikoriza najviše utječe. Prikupljeni podaci ukazuju na sistemske promjene koje simbioza sa arbuskularnom gljivom inducira u biljci i potvrđuju hipotezu da arbuskularne gljive mogu produžiti svoj utjecaj od korjena do ploda (Salvioli i sur., 2012).

Osim rajčice, mikorize su korisne i kod drugih povrtnih vrsta, poput primjerice paprike, što su pokazali Kaya i sur. (2009) u studiji o učincima soja arbuskularne mikorize *Glomus clarum* na rast i prinos paprike (*Capsicum annum cv*. 11B 14) uzgajanoj u staklenički uvjetima i velikoj zaslanjenosti tla. Tretmani sa NaCl su reducirali ukupnu suhu tvar u mladicama i korjenju te prinos u usporedbi sa biljkama koje nisu tretirane solju. Koncentracije N, P i K u lišću su značajno reducirane radi velike zaslanjenosti, međutim mikorizna kolonizacija na biljkama koje su negativno reagirale na veliku količinu soli u supstratu je obnovila koncentracije hraniva u lišću na istu razinu kakva je bila kod biljaka koje nisu rasle u slanim uvjetima. Inokulacija je poboljšala rast paprike i u uvjetima zaslanjenosti i u uvjetima bez povećane količine soli.

Jedna od impresivnih sposobnosti mikoriznih gljiva je mogućnost povezivanja više različitih biljnih jedinki od strane jedne gljive te translokacija hraniva iz jedne u drugu ovisno o potrebama i mogućnostima svake. Yao i sur. (2016) ispitivali su sposobnost micelija u povezivanju različitih biljaka te ulogu mikoriza u podzemnoj komunikaciji između biljaka putem kemijskih supstanci.

Korišteni su dvokomponentni kontejneri, odnosno kašete po sredini razdvojene mrežom različitih debljina. Mreža debela 0.37 μm ima mogućnost propuštanja micelija, ali ne i korjena, dok mreža debela 0.45 μm nije bila propusna ni za micelij ni za korjen. U svakom kontejneru je po jedan odjeljak inokuliran sa gljivom *Paraglomus occultum*. Potvrđeno je da micelarne mreže ostvaruju kontakt između sadnica. Njihova uloga je poboljšavanje rasta biljke domaćina i poboljšavanje svojstava tla kod biljke koja sama po sebi nije bila inicijalno inokulirana ali je micelij susjedne biljke prošao kroz mrežu i, došavši s njom u kontakt, uspostavio mikorizu.

Mikorizna inokulacija je znaļajno poveĺala teġinu lista, stabljike i korjena. Micelarna mreġa u kaġeti sa mreġom debelom 37 ε m je imala znaļajno pozitivne uļinke na navedena svojstva kod neinokulirane biljke. Kod micelarne mreġe od 0.45 ε m doġlo je do poveĺanja navedenih svojstava inokulirane biljke ali je znaļajno inhibirala biomasu kod neinokulirane biljke. Ovo ukazuje da inokulacija arbuskularnom gljivom pridonosi poboljġanju rasta biljke i plodnosti kod obje biljke (Yao i sur., 2016).

Arbuskularne gljive su poznate po tome ġto pospjeġuju vegetativni rast putem poboljġanog usvajanja minerala u tlima siromaġnim hranivima. Ovi pozitivni uļinci na biljni rast mogu znaļajno varirati meĽu razliļitim kultivarima pojedine vrste i meĽu biljnim vrstama koje potjeļu iz razliļitih podruļja. Provedeno je istraġivanje tokom kojeg se testirao odgovor triju drvenastih biljnih vrsta sa razliļitih geografskih podruļja: *Parkia biglobosa, Tamarindus indica L*. i *Ziziphus mauritiana Lam*. na mikoriznu kolonizaciju kako bi se utvrdila njihova ovisnost o mikorizama i analizirao sastav listova i stabljike (Guissou i sur., 2016).

Ġest mjeseci nakon inokulacije mikoriznom gljivom, rezultati su pokazali da biljke ovisno o podrijetlu razliļito odgovaraju na simbiozu s mikoriznom gljivom. Indijska ġiġula, *Ziziphus mauritiana*, je pokazala znaļajno veĺu ovisnost o mikorizama u odnosu na druge dvije vrste. Kljuļnim se pokazalo podrijetlo sjemena, no razine kolonizacije korjena (80-90%) nisu previġe varirale ovisno o podrijetlu. U svim sluļajevima mikorizna gljiva je pogodovala drveĺu pugem veĺeg usvajanja N, P i K. Naroļito je usvajanje P bilo proporcionalano s ovisnosti o mikorizi. Moġe se zakljuļiti da je vaġnost uzimanja u obzir podrijetla sjemena kada se odvija preselekcija mikotropnih biljnih kandidata prije podizanja veĺih voĺnjaka ili ġumskih sistema, vaġan korak u proizvodnji.

Buduĺi da se neke voĺne vrste uzgajaju radi daljnje prerade plodova, vaġno je znati kakav utjecaj mikorizne asocijacije imaju na kvalitetu i svojstva dobivenih proizvoda.
U cilju boljeg uvida u ta svojstva, ispitana su fizikalno-kemijska svojstva plodova masline (*Olea europaea L. var. Sariulak*) te dobivenog ulja nakon mikorizacije sa arbuskularnom gljivom (*Rhizophagus intraradices*) te aplikacije mikoriziranog kalcita kao stimulanta biljnog rasta.
Naroļit je naglasak bio na individualnim fenolnim spojevima vaġnim za proizvodnju ulja. Masline su pokazale veĺu akumulaciju hidroksitirosola i p-hidroksibenoiļne kiseline u biljkama na kojima je bilo inokulacije, u usporedbi sa vrijednostima neinokuliranih biljaka.

Inokulacija je rezultirala smanjenom koncentracijom vanilina, dimetiloleuropeina i luteolina u plodovima. Bilo je razlika u stupnjevima fenola u plodovima i njihovim uljima, pa je tako količina hidroksitirosola rasla kod biljaka koje su bile i mikorizirane i imale aplikaciju kalcitom. Nakon kombinirane primjene mikoriznih gljiva i kalcita, ulja nisu pokazala značajnu promjenu u ukupnim fenolima, što je u suprotnosti sa vrijednostima koje su bile u plodovima.
Ovi rezultati pokazuju da na fenolne spojeve koji imaju hidrofilnu strukturu utječu i mikorize i kalcit više nego što utječu na lipofilnu strukturu (Kara i sur., 2015).

Voćna vrsta kod koje simbioza sa mikoriznim gljivam također pokazala korisnom je i naranča, što je utvrđeno tokom studije koju su proveli Ortas i Ustuner (2014). Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi učinke inokulacije sa jednim sojem arbuskularne gljive, sa dva soja i sa nativnim inokulatom, koristeći specifičan medij za rast, na rast i usvajanje hraniva kod sadnica naranče *Citrus aurantium L*. Mikorizna inokulacija povećala je neke parametre vegetativnog rasta kao što su visina mladica, promjer te ukupna suha tvar izdanaka i korjena. Uočena je razlika u učinku korištenja jednog soja i korištenje dva soja mikorizne gljive. Pozitivni učinci mikorizacije sa jednim sojem i dvostruke inokulacije bili su značajni. Kolonizacija korjena je bila uspješnija kod korištenja dvaju sojeva. Biljka je bolje usvajala fosfor i cink. Rezultati su pokazali da su nativni sojevi jednako učinkoviti kao komercijalni inokulum. Ovo ispitivanje ukazuje na prikladnost mikoriznih asocijacija kod uspješnog uzgoja citrusa u voćarskoj proizvodnji.

Rastući broj rezultata koji idu u korist pozitivnim učincima ovog simbioznog odnosa na biljku domaćina ukazuje da bi se mikoriznie asocijacije u voćarskoj, a i općenito poljoprivrednoj proizvodnji, trebalo uzeti u obzir, te navedeni podaci potvrđuju značajne poljoprivredne, ekološke i ekonomske koristi ovih mikroorganizama.

7.6.Otpornost biljke na stres

Osim što su se pokazale izrazito korisnima kod usvajanja hraniva te posljedično na uspješniji rast i razvoj biljke, uočen je cijeli niz drugih koristi od ovog tipa asocijacija za biljku. Između ostalog, mikorize se mogu pokazati korisnima kod otpornosti biljke na sušu te kod različitih vrsta stresova kao što je zaslanjenost tla. Provedene su mnoge studije koje dokazuju koristi mikoriznih asocijacija u ovom kontekstu.

Već ina biljnih usjeva ima potencijal uspostavljati arbuskularne mikorize, koje mogu poboljšati opskrbu vodom i hranivima, povećati biljnu toleranciju na okolišne stresove i otpornost na bolesti korjena i nematoda svojih biljaka domać ina. Time, inokulacija voć nih vrsta gljivom koja tvori arbuskularne mikorize može biti itekako profitabilna te su pritom dostupni komercijalni inokulumi.
Arbuskularna mikoriza može biti uč inkovita u povećanju biljne otpornosti na sušu i stres uzrokovan povećanom količ inom soli u tlu. Osobito su obećavajuć e u biokontroli korjenovih nematoda te u povećanoj kemijskoj kvaliteti povrć a za ljudsku upotrebu. Mnoge porodice povrtnih kultura (*Amaryllidaceae, Apiaceae, Asteraceae, Cucurbitaceae, Fabaceae i Solanaceae)* pokazuju visoku ovisnost o mikoriznim asocijacijama (Baum i sur., 2015).

Istražen je uč inak kolonizacije arbuskularnom gljivom na prinos i efikasnost usvajanja vode kod lubenice (*Citrullus lanatus*) pod terenskim uvjetima. Autori su usporedili mikorizirane i nemikorizirane biljke, dobro navodnjene i pod uvjetima vodnog stresa. Pokazalo se da mikorizirane biljke imaju značajno već u biomasu i prinos u usporedbi s nemikoriziranima, bez obzira na to jesu li biljke bile pod stresom ili ne, jer je mikoriza poboljšala koncentracije hraniva u listovima (Kaya i sur., 2003).

Što se tič e povećanja biljne otpornosti na stres uzrokovan velikim količ inama soli u tlu, više studija dokazuje korist mikoriza u ovom kontekstu.
Arbuskularne mikorize smanjuju stres uzrokovan zaslanjenošć u kod mnogih kultura, primjerice banana, bob, rajč ica, maslina, palma i druge (Trouvelot i sur., 2015) putem poboljšanja usvajanja P, N, Zn, Cu i Fe. Poboljšanje količ ine fosfora u biljci je vjerojatno najvažniji izvor otpora na stres kakav izaziva velika zaslanjenost. Prouč avana je mikoriza kod vinove loze uzgajane u uvjetima navodnjavanja slanom vodom.

Zaslanjenost je smanjila rast u visinu, no ukupni vegetativni rast se povećao kao rezultat inokulacije mikoriznom gljivom. Da mikoriza ima pozitivan uč inak na biljnu otporonost na zaslanjenost tla pokazali su i Oztekin i sur. (2012) koji su istražili kombinirane uč inke presađivanja i mikorizne inokulacije pod uvjetima zaslanjenosti. Pokus je proveden u plasteniku tijekom jeseni i proljeć a 2008. i 2009. godine na rajč ici.
Polovica biljaka je umoč ena u suspenziju koja je sadržavala endomikorizne arbuskularne gljive (*Glomus spp*.) jedan dan prije presađivanja, dok je druga polovica presađena bez ikakvog tretmana kao kontrola.

Iako nije bilo statistiļkih razlika u teġini suhe i svjeġe tvari biljnih dijelova, mikorizna inokulacija je poveĺala teġinu svjeġe i suhe tvari korjena. Od kvalitativnih parametara, vitamin C je bio poveĺanih vrijednosti kod inokuliranih biljaka dok se titracijska kiselost smanjila. Postotak suhe tvari, snaga kore, titracijska kiselost i pH su takoĽer bili drugaļiji kod inokuliranih biljaka. Sukladno tome tolerancija na zaslanjenost bila bi puno bolja kada bi se presadnice prethodno inokulirale sa mikoriznim gljivama te se takav tretman preporuļa kod onih kultura koje zahtijevaju uzgoj iz presadnica i viġestruko presaĽivanje, ġto je vaġan podatak za rasadniļku proizvodnju.

Koc (2015) je takoĽer doġao do zakljuļka da arbuskularne mikorize smanjuju biokemijske promjene koje na jagodama uzrokuje uzgoj na slanom tlu. Kod naranļe se recimo vrsta *Glomus versiforme* pokazala najuļinkovitijom gljivom za smanjenje ovakvog tipa stresa (Zou i Wu, 2011) te ļak postoje naznake da bi kombinacija mikorize sa bakterijskim konzorcijem mogla biti zanimljiva. Upreti i sur. (2015) su utvrdili da ova kombinacija znaļajno poboljġava toleranciju na stres kod groġĽa, zajedno sa poboljġanjem u biljnom usvajanju vode.

Latef i Chaoxing (2011) su pak istraġili mehanizme smanjivanja stresa uzrokovanog zaslanjenoġću putem arbuskularne gljive *Glomus mosseae* na rajļici (*Lycopersicon esculentum L.*) kultiviranoj u tlu sa 0.50 i 100mM otopinom NaCl.
Mikorizacija je pozitivno utjecala na rast, lisnu povrġinu, sadrġaj klorofila, teġinu svjeġe tvari u voĺu i prinos. Koncentracije P i K su bile viġe kod mikoriziranih, u usporedbi sa nemikoriziranim biljkama uzgajanim pod slanim uvjetima i uvjetima bez zaslanjenosti. Koncentracije Na su bile niġe kod mikoriziranih nego kod nemikoriziranih gljiva te se pokazalo da mikorizne gljive ġtite biljke protiv zaslanjenosti na naļin da smanjuju oksidativni stres kakav izaziva velika koncentracija soli.

Za voĺarsku je proizvodnju osobito vaġno ispitivanje koje su provedi Almeida i suradnici (2016) o uļinku stresa uzrokovanog poveĺanom koncentracijom soli (NaCl) na sadnice banane kolonizirane arbuskularnom gljivom, provedene na supstratu u plasteniļkim uvjetima. Poveĺane razine soli uzrokovale su redukciju u suhoj tvari i u stupnju fotosinteze, ġto moġe biti povezano s osmotskim uļinkom soli u tlu, poveĺanju natrija i smanjenju razine duġika u ligĺu. Pokazalo se da sol reducira mikoriznu kolonizaciju korjena, ali ne utjeļe na gustoću spora, ġto je korisna informacija kod uzgoja ove voĺne vrste.

Uzgoj biljaka iz presadnica uzrokuje odreĎeni stres za biljku tokom viđestrukog presaĎivanja. Kod veĆine viđegodišnjih biljki iz umjerenog pojasa, presaĎivanje uglavnom rezultira slabijim poļetnim rastom đto sprijeļava nove sadnice u dostizanju maksimalnih kapaciteta produktivnosti i ekonomske isplativosti. Obzirom na rastuĆe zahtjeve u organskoj proizvodnji voĆa i regulativi prisutnoj u upotrebi fumiganata i sliļnih praksi, postoje utemeljene naznake da bi mikorizacija mogla biti korisna tehnika u poboljđanju biljnog zdravlja tokom ove osjetljive faze rasta.
Forge i sur. (2015) tvrde da uspostava mikoriznih asocijacija vodi ka poboljđanju uļinkovitosti i pouzdanosti uzgoja voĆa iz sadnica i da smanjuje stres koji se pritom vrđi na biljku.

U svrhu utvrĎivanja potencijalno povoljnog uļinka mikorize na biljku tokom ovog procesa, Castillo i sur. (2009) proveli su ispitivanje na ļili papriļici (*Capsicum annuum L.*) buduĆi da ta biljka zahtijeva uzgoj iz presadnica. Cilj studije je usporediti uļinkovitosti dviju arbuskularnih gljiva sa komercijalnim (*Glomus intraradices*) i lokalnim inokulumom (*Glomus claroideum*) te sa kontrolom bez inokulacije.
Rezultati istrađivanja pokazali su da je kod biljaka inokuliranih sa lokalnom mikoriznom gljivom bilo viđe folijarne mase, berba je poļela 49 dana ranije i teđina svjeđe tvari je bila ļak 177 % viđa u usporedbi s kontrolom. Kolonizacija na korjenu je bila dosta niska, đto pokazuje znaļajnu razliku u usporedbi sa komercijalnim inokulumom, dok je istovremeno dođlo do velike proizvodnje spora u supstratu. Iz toga se vidi da inokulacija sa nativnom gljivom smanjuje stres presaĎivanja i pritom ubrzava proces sazrijevanja biljaka đto rezultira sa viđim prinosom i veĆom kvalitetom prinosa.

Cecatto i sur. (2016) tvrde da inokulacija sa arbuskularnom gljivom pri presaĎivanju sadnica jagoda utjeļe na sadrđaj antocijana i fenola - plodovi pokazuju vrlo visok sadrđaj i jednog i drugog. TakoĎer, dolazi do smanjenja kisleosti u plodovima tokom sezone rasta i poveĆanja njihove ļvrstoĆe tokom ranih stadija proizvodnje. Ovo je vrlo znaļajno otkriĆe kod voĆnih vrsta kao đto je jagoda, za koju je tvrdoĆa vrlo znaļajna kod transporta plodova.

Asocijacije sa gljivama koje tvore arbuskularne mikorize mogu biti korisne u uvjetima suđe, đto su Bowles i sur. (2016) utvrdili prilikom studije provedene na dva genotipa rajļice, *Solanum lycopersicum* L. genotip MYC+ mutantni nemikorizni genotip. Dobiveni rezultati pokazali su da arbuskularna mikoriza poveĆava trđišni prinos rajļice za otprilike 25 % te su

biljke imale više koncentracije dušika i fosfora, 8%-tnu stomatalnu provodnost i veći ukupni prinos.
Studije utvrđivanja korisnosti mikoriza kod uvjeta suše su također proveli Calvo-Polanco i sur. (2016) tokom kojih su pokušali otkriti na koji način arbuskularne gljive koje potječu sa različitih tala utječu na rast i vodni potencijal stabala maslina. Masline su inokulirane nativnim populacijama prikupljenih sa dvaju različitih staništa, semi-aridnih i humidnih regija, te zatim podvrgnute stresu suše.

Utvrđeno je da biljke rastu bolje sa gljivama koje potječu iz humidnih područja što je korisno znati prilikom izbora najidealnijeg inokuluma za pojedinu proizvodnju. Dalje, pod ovim uvjetima je nađena najveća raznolikost arbuskularnih gljiva.
Obje mikorizne inokulacije značajno povećavaju visinu biljaka, promjer stabljike, broj lateralnih mladica i lišća, ukupne fenole, klorofile i karotenoide što potvrđuju Seifi i sur. (2014).
Ove i slične studije pokazuju ne samo da se mikorize mogu upotrebljavati kao oruđe u borbi protiv suše, ali da treba obratiti pozornost na sojeve gljiva te na staništa iz kojih potječu budući i da su i to birni faktori za postizanje maksimalnih rezultata kod mikoriziranja.

Zou i sur. (2016) su ispitali svojstva glomalina, posebnog glikoproteina kojeg izlučuju hife i spore arbuskularnih gljiva, a koji posjeduje neke raznolike karakteristike od kojih su najizražajnije hidrofobna priroda i stabilnost na visokim temperaturama. Glomalin uslijed procesa degradacije hifa oblaže organsku tvar i čestice tla te time formira zaštitni površinski sloj koji služi protiv gubitka vode i hraniva iz agregata tla. Na taj način glomalin utječe na sposobnost zadržavanja vode od strane tla i biljke. Također predstavlja svojevrsno ljepilo, koje stabilizira agregate tla te frakcije organske tvari u višegodišnjim voćnjacima. Ovi podaci pokazuju da se glomalin treba uzeti u obzir kao potencijalnoi tretman za tlo kod višegodišnjih voćaka.

7.7.Otpornost na bolesti i štetočine

Osim na terenu, važnost mikoriznih asocijacijama dolazi do izražaja i kod uzgoja bilja u rasadnicima, radi svojih brojnih pozitivnih učinaka na biljni rast te na biozaštitu. S time u vidu Aleandri i sur. (2015) su pokušali odrediti učinak mikorizne inokulacije sa gljivom *Rhizophagus irregularis* u rasadničkom mediju na korjenu dinje zaražene biljnim patogenom *Monosporascus cannonballus*.

Nakon umjetne zaraze patogenom, mikoriza je omogućila posvemašnju zaštitu protiv patogena, što pokazuje da inokulacija prije presađivanja značajno smanjuje ozbiljnost ove bolesti. Treba naglasiti i da je prosječna masa plodova kod mikoriziranih biljaka bila značajno veća nego kod netretirane kontrole.

Korištenje arbuskularnih gljiva u rasadnicima dakle pridonosi prevenciji ove problematične bolesti, što je značajno u ekonomskom kontekstu budući da smanjuje gubitke izazvane bolestima te maksimizira financijski potencijal zasađenih biljaka.
Više je načina na koje su mikorizne gljive učinkovite u borbi protiv biljnih bolesti. Mikorize proizvode antibiotike sposobne odvratiti patogene korjena. Također imaju kapacitet selektivno transportirati sol i toksične spojeve podalje od biljnog korjena (Alexander, 2016).

Bidens pilosa je biljka iz porodice *Asteraceae* koja se u nekim geografskim područjima pokazala invazivnom, pa Franca i sur. (2016) navode da se mikorizne asocijacije mogu poboljšati kompetitivnost kave s ovom biljnom vrstom. Sadnice kave su inokulirane sa sporama gljiva koje su se razvijale 120 dana, pa su nakon toga podvrgnute uvjetima kompeticije sa *B. pilosom* još 120 dana.

Inokulacija je omogućila bolji rast i opskrbu hranivima. Kompeticija sa *B. pilosom* je reducirala kolonizaciju, visinu, lisnu površinu, suhu tvar lista i stabljike te korjena, broj reproduktivnih grana i razine P i Fe u biljkama. Međutim, štetan učinak *B. pilose* je bio manji kod inokuliranih biljaka, što ukazuje da se mikorizne asocijacije mogu koristiti kao pomoć biljci u borbi sa invazivnim korovima.

Mycosphaerella fijiensis je pak gljivični patogen koji napada gotovo sve kultivare banane za kojeg je aplikacija fungicida trenutno najraširenija mjera kontrole, dok je upotreba bioagenata gotovo ignorirana. Pod in vitro uvjetima arbuskularne gljive (*Rhizophagus irregularis* MUCL 41833) mogu smanjiti posljedice ove bolesti na banani. Gljive mogu smanjiti, barem u početnom stadiju infekcije, simptome ovog patogena ili moguće putem indukcije sistemičnog puta otpora. Vidno smanjenje simptoma zapaženo kod mikoriziranih banana ukazuje da ovi mikroorganizmi predstavljaju potencijalno atraktivnu opciju u kontekstu integralne kontrole ove opasne bolesti (Oye Anda i sur., 2014).

7.8. Korist mikoriznih asocijacija za tlo

Uloga gljiva u tlu dobro je poznata: one služe kao razlagači organske tvari, kao izvor hrane, no ono što je osobito značajno za poljoprivrednu praksu je sposobnost gljiva da utječu na agregate tla.
Širenjem i grananjem micelija u tlu one direktno utječu na strukturu te vodozračne režime tla, smanjuju gubitke hraniva putem ispiranja a samim time i ispiranje fosfora i drugih elemenata Na taj način indirektno štite vodne sustave te smanjuju nagomilavanje kemijskih elemenata u tlu. Ovi učinci postižu se putem poboljšanog usvajanja hraniva od strane biljke, što smanjuje količinu nakupljenih elemenata u tlu, a samim time se smanjuju potrebe za unošenjem kemijskih gnojiva u tlo.

Stamets (2005) je detaljno obradio načine na koji se mikorizne gljive mogu iskorištavati u svrhu čišćenja tla od teških metala i toksičnih otpada, putem procesa mikorestoracije i mikoremedijacije, kao mikopesticidi smanjujući zagađenja primjenom kemijskih sredstava zaštite, te u pošumljavanju tala sa smanjenom koncentracivom hraniva, kao što su tla u blizini rudnika, čime se ubrzava obnavljanje tala na takvim područjima.
Mnoge gljive iz umjerenog pojasa proizvode glikoproteine koji tokom niskih temperatura štite gljivu od smrzavanja tako što služe kao zaštita micelija od štetnih učinaka kristalizacije vode u led. Usto štite tlo od smrzavanja, čime se zaštita prenosi na biljke tijekom ekstremnih hladnoća (Stamets, 2005).

Pozitivni učinci mikoriznih asocijacija na strukturalna svojstva tla su dobro poznati, pa je logično zaključiti da se mikorizne gljive mogu pokazati korisnima kod uzgoja biljnih vrsta na tlima sa većim udjelom pijeska koja su radi svoje strukture sklona ispiranju hraniva te koja su manje stabilna u odnosu na druge tipove tala.
U tom su se kontekstu korisnima pokazale četiri vrste arbuskularnih gljiva i *Claroideoglomus tunicatum, Diversipora versiformis, Funneliformis mosseae* i *Rhizophagus intraradices* u simbiozi sa korjenovim sustavom naranče (*Poncirus trifoliata*) uzgajane u pijesku.

Inokulirane sadnice pokazale su znatno veću gustoću korjenovih dlačica nego kontrola, nevezano za soj gljiva - inokulacija je značajno smanjila duginu korjenovih dlačica kod lateralnog korjenja prvog i drugog reda ali je povećala duginu lateralnog korjenja trećeg i

ļetvrtog reda. PronaĽene su znaļajno veĺe koncentracije fosfora, NO, glukoze, sukroze i fitohormona auksina - IAA na korjenju mikoriziranih sadnica u usporedbi sa kontrolom. Koncentracije P, NO, ugljikohidrata i IAA u korjenju korelirale su sa razvojem mikoriza i razvojem korjenovih dlaļica (Wu i sur., 2016).
Arbuskularne gljive dakle mogu mijenjati profil korjenovih dlaļica kod naranļe kroz modulaciju fizioloških aktivnosti. *F. mossaceae*, pokazala je najbolje rezultate te bi mogla predstavljati uļinkovitu gljivu za poveĺanje prinosa voĺa ili za smanjenje razina korištenih gnojiva u proizvodnji citrusa.

Dobro je poznato da mikroorganizmi imaju sposobnost svojim djeovanjem mijenjati pH vrijednost tla bilo putem oksidacije sumpora i amonijaka, što otpušta H^+ ion u tlo, bilo putem proizvodnje organskih kiselina. Ne smije se zaboraviti ni pozitivna ili negativna nabijenost organskih molekula od kojih je sastavljena površina tih mikroorganizama, što znaļi da se mikroorganizmi i tlo mogu svojom pH vrijednosti meĽusobno odbijati ili privlaļiti.

Taj je podatak znaļajan za voĺne vrste koje imaju zahtjeve za kiselošću tla, poput borovnice. Waters i sur. (2008) navode da arbuskularna mikoriza na borovnici pokazuje rezultate u poveĺanom usvajanju gnojiva ļak i kod smanjene gnojidbe. Takvo smanjenje u koliļini unesenog gnojiva takoĽer ima utjecaj na okoliš u kontekstu smanjivanja potencijalnog ispiranja hraniva u zemljane i vodne resurse, posebice uzevši u obzir to da borovnice preferiraju amonijski oblik dušika. Ovakvi rezultati sugeriraju mogućnost uspješne i ekonomski isplative voĺarske proizvodnje i pri smanjenoj aplikaciji gnojiva, što uz ekonomske uštede predstavlja dobrobit za tlo i okoliš radi smanjenog unosa gnojiva.

7.9. Utjecaj okolišnih faktora i agronomskih zahvata na mikorizu

Za uspješno upravljanje mikoriznim asocijacijama potrebno je proučiti i uzeti u obzir utjeļu li, i ako utjeļu, na koji naļin, razliļiti agronomski zahvati, uvjeti u tlu te ostali faktori na uspostavljanje, razvoj i na kraju uspješnost te korisnost mikoriza.
Ukoliko želimo maksimizirati uspješnost mikorizne kolonizacije te izvuĺi najveĺi mogućnost potencijal iz uspostavljene mikorize, potrebno je proučiti na koji to naļin okolišni uvjeti, izbor kultivara, radovi u nasadu i sliļne prakse utjeļu na prisustvo i uļinkovitost mikoriznih gljiva.

Tako je za uspješnu infekciju ektomikoriznom gljivom važna selekcija kultivara, obrada tla prije sadnje i plodored. Ovi bi parametri mogli potencijalno utjecati na intenzitet i distribuciju ektomikorizne infekcije u komercijalnoj upotrebi.
Pokazalo se da na distribuciju i intenzitet ektomikoriznih gljiva pak utječe tip malča, oranje tla, tip i količina primjenjenog gnojiva i tretmani prije sadnje.
Indirektni faktori koje treba uzeti u obzir su dob biljaka i nasada i faktori tla kao što su pH i količina hraniva u tlu (Waters i sur., 2008).

Primjena sredstava za zaštitu, kao što je fumigacija i termička sterilizacija tla također utječu na kolonizaciju arbuskularnim gljivama. Koron i sur. (2014) navode da tretmani biofumigacije, zagrijavanja tla te kemijska fumigacija značajno smanjuju mikoriznu kolonizaciju u usporedbi sa netretiranom kontrolom kod jagoda.
Autori navode da se, unatoč smanjenoj kolonizaciji, biofumigacija može pokazati dobrim izborom s obzirom na veći broj plodova i veću masu ligća jagode te predstavlja nekemijsku metodu fumigacije koja se može koristiti u održivoj proizvodnji jagoda.

Budući da u hortikulturi, naročito u voćarstvu, mnoge vrste prolaze kroz različite tretmane dozrijevanja te tretmane nakon berbe, Chialva i sur. (2016) navode biljne odgovore na arbuskularne gljive tokom dozrijevanja rajčice, ovisno o tome da li se primjenjuje etilen ili svjetlosna recepcija.
Budući da su simbioza arbuskularnom gljivom utječe na dozrijevanje rajčice, moguće je da dolazi do međusobnog utjecaja simbioze i samog dozrijevanja.

Oba tretmana za dozrijevanje pokazuju različitu funkcionalnost arbuskula. Mikoriza nije dovela do veće koncentracije fosfata u plodovima kod oba tretmana za dozrijevanje. Iz toga se može zaključiti da tretmani utječu na arbuskularnu mikorizu inducirajući sistemske promjene u biljnoj fenologiji i metabolizmu voća. Hipoteza je da postoji međusobni utjecaj između mikorize i procesa dozrijevanja koji uključuje gene povezane sa etilenom i svjetlosnom signalizacijom, međutim potrebno je provesti dalje studije kako bi se točno utvrdili mehanizmi koji stoje iza toga (Chialva i sur., 2016).

Kako bi se proučavale interakcije recipročnih utjecaja biljnih zajednica i mikoriznih gljiva, potrebno je proučiti međusobne interakcije različitih članimbenika u ekosustavu. Derelle i sur. (2015) navode da gustoća biljaka nema učinka ali da mješavina kultura pozitivno utječe na

kolonizaciju u usporedbi s područjima kakva karakteriziraju monokulture. Kolonizacija korjena ne varira puno s obzirom na gustoću biljaka ali asocijacija sa više biljnih vrsta povećava poroporcije arbuskula u korjenju u odnosu na monokulture.

Razni agrotehnički zahvati u također zauzimaju važnu ulogu u održavanju raznolikosti arbuskulratnih gljiva u poljoprivrednim tlima.
Alguacil i sur. (2014) navode da se distribucija zajednice arbuskularnih gljiva kod breskve, *Prunus persica,* razlikuje kao posljedica različitih tipova gnojidbe u kombinaciji sa kemijskim sredstvima za zaštitu. Distribucija zajednice gljiva se razlikovala kao posljedica tretmana. Tretmani koji su kombinirali organska i anorganska gnojiva sa kemijskom sredstvima za zaštitu su imali najveće bogatstvo gljiva te tretmani koji su kombinirali anorganska gnojiva sa kemijskim sredstvima su imali najniže.

Način upravljanja usjevom može dakle vršiti značajan utjecaj na populaciju arbuskularnih gljiva. Tretmani koji kombiniraju organsku i mineralnu gnojidbu se čine najprimjerenijom strategijom s obzirom na pokušaj popravljanja raznolikosti mikoriznih gljiva u tropskim uvjetima i održanju održivosti agroekosustava.

Kontrola temperature, naročito u hidroponskom uzgoju, pozitivno utječe na usvajanje Mn i Zn kod mikoriziranih biljaka (Maboko i sur., 2013). Također se i upotreba zelenog komposta u kombinaciji sa arbuskularnim gljivama pokazuje dobrim tretmanom jer pozitivno utječe na kvalitetu plodova kod rajčice (Copetta i sur., 2011), jednako kao i vermikompost (Javanmardi i sur., 2014). Kod voćne vrste *Litchi chinensis Sonn*. se tehnika zarezivanja kore (prstenovanje) pokazala vrlo učinkovitom u kombinaciji s mikoriziranjem (Shu i sur., 2016). Ovaj tretman u kombinaciji sa mikoriznom simbiozom značajno utječe na razine saharoze te neutralne i kisele invertaze. U kombinaciji s ovim tretmanom kolonizacija arbuskularnim gljivama je puno osjetljivija na prisustvo ugljikohidrata. Na kraju, dokazano je da tehnika zarezivanja kore stabala vrlo vjerojatno ima utjecaja na stupanj kolonizacije te na dužinu korjenovih dlačica, i to putem smanjenog sadržaja ugljikohidrata i putem reguliranja aktivnosti enzima saharoze.

Stamets (2005) navodi studiju sa američkom duglazijom, *Pseudotsuga menziesii* i brezom *Betula papyrifera*, dvjema vrstama koje su dijelile istu arbuskularnu gljivu, no, jedno od drveća, *P. menziesii* je uzgajano u uvjetima duboke hladovine kako bi se smanjila sposobnost

drveta da fotosintetizira ugljika. Kao odgovor na to mikoriza je kanalizirala ugljika, koji su praćeni putem radioaktivnog ugljika, iz zone korjena *Betule papyrifere* ka *P. menziesii*. Čak je 9 % ugljikohidrata preneseno iz *B. papyrifere*. Ovo dokazuje da je količina translociranog ugljika bila direktno proporcionalna količini sjene, što znači da su mikorize sposobne održavati više različitih vrsta na način da translociraju hraniva iz jedne u drugu i time doprinose ravnoteži u šumskom ekosustavu.

Obzirom na brojna istraživanja koja dokazuju učinak različitih agrotehničkih zahvata, poput oranja, mališanja, fumigacije, gnojidbe, navodnjavanja i dr. na uspostavu i učinkovitost mikoriznih asocijacija na tlu, te samim time i na njihovu dobrobit za biljku i nasad, jasno je da se način primjene ovih radnji treba barem djelomično prilagoditi mikoriznim gljivama.

8. Primjena molekularnih metoda u identifikaciji mikoriznih gljiva

8.1. Identifikacija mikoriznih gljiva

Konvencionalne metode identifikacije gljiva su se ļesto oslanjale na identifikaciju simptoma bolesti, izolacije i laboratorijske identifikacije po morfološkim karakteristikama i biokemijskim testovima, prema otpornosti na antibiotike, serološka svojstva, analizom staniļnih proteina i osjetljivosti na bakteriofage. Iako su ove metode i dalje temeljne, problem sa tradicionalnim metodama identifikacije je to što nisu dovoljno precizne u odreĽivanju pojedinog soja, zahtijevaju veće koliļine vremena i ne mogu se primjeniti na većem broju uzoraka (Blaġinkov, 2006).

Neke molekularne metode identifikacije gljiva temeljene su na PCR te DNK/RNA metodama. PCR metode identifikacije i kvantifikacije gljiva pokazale su se kao korisni alati, ali je i dalje nuġno kombinirati novu tehnologiju sa konvencionalnim metodama kako bi se potpuno razumijele interakcije u okoliġu.
Na raspolaganju je i kloniranje, koje sluġi za dobivanje više kopija gena ili nekog drugog djelića DNK u uzorcima koji proizvode miješane PCR produkte te kvantitativnu PCR ili real-time PCR metodu.

8.2. Izolacija DNK mikoriznih gljiva iz uzorka tla

Prije izolacije DNK mikorizne gljive, uzorci tla i vrhova korjenja mogu se skladištiti nekoliko dana na 4°C, meĽutim treba ih obraditi što je brže moguće kako bi se spriječila degradacija i smanjila kontaminacija drugim gljivama. Za dugoroļno skladištenje uzorci se trebaju ļuvati na -20°C.
Uļinkovita izolacija DNK je ključna za identifikaciju, a sami DNK protokoli ovise o izvoru uzoraka te kvaliteti i duġini DNK segmenta koji se analizira. Polifenoli, neke kiseline iz tla i tanini mogli bi inhibitorno djelovati na PCR reakciju pa uzorke treba proļistiti od navedenih supstanci. Osim DNK, RNA se takoĽer može izolirati i to u većim koliļinama nego DNK budući da se u stanicama nalazi u većoj koliļini. RNA pak zahtijeva posebne procedure

ekstrakcije i ne moġe se dugoroļno skladiġtiti jer je puno podloġnija degradaciji i kontaminaciji.

Za PCR amplifikaciju ciljanog DNK fragmenta kljuļna je kvaliteta i ļistoĺa DNK. DNK se moġe kvantificirati putem elektroforeze ili putem spektrofotometra kako bi se procijenila koncentracija izolirane DNK. Prva procedura ima prednost u tome ġto omoguĺava procjenu kontaminacije sa RNA i procjenu kvalitete DNK, meĽutim DNK u vrlo malim koliļinama moġda neĺe biti vidljiva na gelu pa ĺe biti potrebna amplifikacija PCR metodom. DNK se moġe prikupiti direktno, lizranjem stanica u uzorku tla ili indirektno, iz uzorka tla prije liziranja pri ļemu direktna metoda prikuplja viġe materijala i uzorak je manje kontaminiran (Suz i sur., 2008).

8.3. PCR metode

ñPCRò je skraĺeni naziv za ñPolymerase Chain Reactionò (lanļana reakcija polimerazom), odnosno u ġirem kontekstu za tehniku koja se koristi u molekularnoj biologiji, a odnosi se na enzimatsku sintezu specifiļnih sekvenci DNA (Blaġinkov, 2006), pri ļemu je moguĺe dobiti tisuĺe pa ļak i milijune kopija odreĽene DNK sekvence.

PCR metode zasnivaju se na amplifikaciji DNK sekvence, pri ļemu se koriste odabrane poļetnice, odnosno kratki odsjeļci DNK, na koje se razdvojeni lanci genomske DNK veġu te se na taj naļin dobivaju genomski otisci na temelju kojih se vrġi diferencijacija i identifikacija sojeva (Vasilj, 2013). Sama metoda odvija se u tri faze: faza denaturacije u kojoj dolazi do razdvajanja lanca DNK, faza sparivanja poļetnice na slobodne krajeve dva suprotna lanca i faza sinteze, odnosno produljenja komplementarnih lanaca nukleotida. Time se dobiva nova molekula DNK koja se zatim koristi kao kalup u sljedeĺim PCR ciklusima (Pohajda, 2011).
Izolacija DNK zajedno sa PCR amplifikacijom znaļajno poboljġava detekciju i identifikaciju mikroorganizama. Kod identifikacije ektomikoriznih gljiva primjerice, rRNA geni prisutni i u jezgri i u mitohondrijima su najļeġĺe ciljani dio za PCR amplifikaciju.

Za DNK replikaciju je nuġna DNK polimeraza, odnosno enzim koji katalizira proces amplifikacije. Koriste se poļetnice specifiļne za gljive, ITSIF i univerzalna reverzna poļetnica ITS4, naroļito kod identifikacije ektomikoriznih gljiva (Suz i sur., 2008).

DNK amplificirana kroz različite PCR metode se dobiva iz raznih endo i ektomikoriznih gljiva čak i od malog broja spora (Manian i sur., 2001).
PCR metode omogućavaju proučavanje uzoraka bez potrebe za kulturom organizama što omogućava bolje razumijevanje uloge mikoriznih gljiva u kompleksnim sustavima.

8.4.DNK sekvencioniranje

Ova metoda omogućava određivanje sekvence DNK segmenta koji se proučava. Sekvencioniranje je najtočnija tehnika identifikacije gljivičnih vrsta a koristi se na PCR produktima direktno ili nakon kloniranja (Suz i sur., 2008). Laser unutar automatskog uređaja za DNK sekvencioniranje se koristi za analizu proizvedenih DNK fragmenata. Time se sastav i red cijele sekvence može dobiti čitajući sve sekvence od fiksne točke pa sve do zadnje specifične baze.

8.5.Identifikacija i kultivacija ektomikoriznih gljiva

Procese identifikacije i kultivacije ove skupine gljiva detaljno su opisali Suz i suradnici (2008). Autori raznolikost ektomikoriznih gljiva temelje na identifikaciji pod mikroskopom i filotipiziranju (molekularnoj karakterizaciji). Ektomikorizne gljive se mogu karakterizirati i putem morfološkog opisa sporokarpa, no nedostatak ovog načina je pretpostavka da gljive koje rastu u blizini ektomikoriza zapravo i tvore ektomikorize, što ne mora biti točno. Morfotipizaciju opisuju kao relativno povoljnu metodu, no ovaj način zahtijeva temeljitu obuku i znanje u prepoznavanju ključnih mikroskopskih karakteristika gljive te ne garantira uvijek identifikaciju na razini roda i vrste ljiva.
Filotipizacija zahtijeva nešto skuplje materijale ali zato uglavnom omogućava identifikaciju roda i vrste, te su kemijske reakcije korisne u identifikaciji sporokarpa i entomikoriza.

Jako je malo ektomikoriznih gljiva detaljno opisano. Poznavanje morfologije je korisno ali se ne smatra pouzdanom metodom identifikacije budući da boja, grananje i veličina mikoriznog sustava ovise o uvjetima rasta i biljci domaćinu. Identifikacija pod mikoriskopom je ograničena posebice kad su u pitanju rodovi *Russula, Lactarius* i *Cortinarius*.
Kako bi se pak proučavala struktura te morfološke i anatomske karakteristike, ektomikorizne gljive moraju biti netaknute pri uzorkovanju. Uzorci se mogu prikupiti sa korjenja ili pratećih hife koje se pružaju do rizomorfa ili sporokarpa. U oba slučaja uzorke treba uzeti zajedno sa

tlom, kako bi se osiguralo da poveznice izmeĽu ektomikoriznog korjenja, hifa i rizomorfa nisu oģteĺene ili prekinute.

Prikupljene uzorke moģemo skladiģtiti do dva tjedna u plastiļnim vreĺama na 4°C.
Uzorke treba njeģno isprati kako bi se uklonilo tlo, no pritom treba paziti da se ektomikoriza ne oģteti te se pregledava gustoĺa mikorize i izraģava kao broj ģivih mikoriza po metru korjena. Korjenje se pregledava pod mikroskopom, a prouļavaju se boja, tip grananja, veliļina i tekstura, prisustvo hifa, cistidija rizomorfa te sklerocija (Suz i sur., 2008).

8.6. Identifikacija arbuskularnih gljiva

BuduĺI da se arbuskularne mikorize ne mogu uspjeģno kultivirati bez biljke domaĺina, bilo je mnogo pokuģaja uzgoja ovih gljiva u sterilnim uvjetima i na raznim medijima no dosad bez puno uspjeha. Unatoļ tome, moguĺe je izdvajati kulture arbuskularnih gljiva putem nekoliko metoda. Pritom je najjednostavnije uzorak sa terena pomijeģati sa neinficiranim supstratom te zatim u takvom supstratu uzgojiti sjeme ili presadnice biljke domaĺina i pustiti da se razvije mikoriza. Proces uspostavljanja mikorize obiļno traje izmeĽu jednog i ģest mjeseci, no ova metoda uglavnom rezultira mijeģanim inokulumom koji moģe posluģiti kao baza za daljnju izolaciju.
Dalje, mogu se uzeti presadnice sa terena na kojemu je utvrĽena arbuskularna mikoriza ï takvim presadnicama se paģljivo pere korjenje kako bi se uklonio viģak zemlje i eksternog miceija te ih se sadi u prikladni sterilni supstrat. Ova metoda ļesto rezultira mijeģanom kulturom mikoriza buduĺi da biljke domaĺini mogu uspostaviti mikorizu sa simbionata, no nekada se dogodi da se razvije samo jedan soj.

Arbuskularne gljive moģemo razmnoģavati i putem malih djeliĺa korjenja koje stavljamo u kontakt sa nemikoriziranom biljkom domaĺinom u sterilnom supstratu. Ukoliko se koriste dovoljno sitni djeliĺi korjena, moģe se dobiti jednovrsna kultura.
Najpreciznija metoda, meĽutim, je sortiranje spora pod mikroskopom te koriģtenje nekoliko sliļnih spora na nemikoriziranoj biljci domaĺinu (Walker, 1999).
PCR tehnike su postale obavezne za dobivanje dostatnih koliļina DNK, buduĺi da je ove organizme u pravilu nemoguĺe uzgojiti u kulturi te time samo mala koliļina DNK moģe biti izolirana iz spora i inficiranog korjenja (Reddy i sur., 2005).

Kako bi se postigli maksimalni rezultati, prikupljanje uzoraka treba biti dobro isplanirano te pažljivo provedeno. Potrebno je uzorkovati rizosferu biljke domaćina na dubini do 30 cm i broj prikupljenih uzoraka ovisit će o topografiji mjesta, no prosječno će to biti 3 do 15 uzoraka. Vrlo je važno da se pri prikupljanju uzoraka vodi računa o podacima o gljivama i okolišu u kojima su nađene, kao što su primjerice biljke koje rastu u blizini te svojstva tla.

Na zraku prosušeni uzorci tla sa sporama se mogu pohranivati u hermetički zatvorenim plastičnim vrećicama koje se zatim mogu skladištiti na hladnome sve do daljnjeg procesuiranja. Izolacija spora arbuskulartnih gljiva se postiže mokrim prosijavanjem uzorka tla, čemu slijedi centrifugiranje i nakon centrifugiranja spore se prenose na petrijevku te se broje pod stereomikroskopom pod povećanjem od 100x. Koncentracija spora se izražava kao broj spora po gramu tla.
Spore se kategoriziraju ovisno o obliku, veličini i boji (Sasvari i sur., 2012). Propagule arbuskularnih gljiva mogu se sastojati od klamidospora ili azigospora te vezikula i micelija i sveukupno nazivaju se miješani inokulum dok odvojene spore predstavljaju čisti inokulum.

8.6.1. Inokulacija biljaka domaćina arbuskularnom gljivom

Površina sjemenke biljke domaćina treba biti sterilna, te je kod nekih vrsta sa dormantnim sjemenjem nužan dodatni tretman kako bi se osiguralo klijanje. Klijanje se inducira tako da se sjemenke drže između dvaju vlažnih papirnatih ručnika u zatvorenoj plastičnoj vrećici radi očuvanja vlažnosti ali i radi omogućavanja protoka zraka.
Važno je da izabrani supstrat nema visoke koncentracije fosfora, budući da se pokazalo da arbuskularne mikorize najbolje uspijevaju na tlima sa niskim koncentracijama P te populacijska raznolikost vezikularno-arbuskularnih mikoriza značajno korelira sa dostupnim P_2O_5 u tlu (Suchitra i sur., 2012).

Medij za rast mora biti sterilan kako bi se osiguralo uspješno formiranje mikorizne asocijacije sa biljnim korjenom i kako bi se onemogućili eventualni patogeni ili kompeticija sa drugim mikroorganizmima tla. Inokulacija se vrši u omjeru 1 jedinice inokuluma naprama 20 jedinica supstrata. U takav se medij pohranjuje sterilno sjeme te se svakodnevno zalijeva vodom, sve dok voda ne počne otjecati iz posude u koju se sadi.
Primjenjuje se gnojidba sa niskim koncentracijama fosfora te se nakon otprilike 6 tjedana može provjeriti prisustvo mikorize (Miyasaka i sur., 2003).

9. Zaključak

Mikorizne asocijacije su se kroz brojna istraživanja pokazala izrazito korisnima za voćarsku proizvodnju i poljoprivredu općenito, no nažalost, upotreba mikoriznih gljiva još uvijek nije raširena i tek se polako počinje prepoznavati njihova komercijalna i ekološka vrijednost. Kao heterotrofni organizmi čiji se hranidbeni obrasci razlikuju, mogu rasti u simbiozi sa različitim vrstama biljaka. Obzirom na svoju mogućnost mijenjanja fizikalnih i kemijskih svojstava tla, možemo ih koristiti na širokom rasponu različitih tala.

Mogu se koristiti u smanjivanju gubitaka hraniva iz tla do kojih dolazi putem raznih prirodnih pojava te općenito poboljšati usvajanje vode od strane biljke, čak i u uvjetima suše, budući da se hife gljiva u tlu šire daleko dalje nego korjenje biljaka što omogućava biljci usvajanje vode i izvan nutritivno deficitarne zone kakva se formira u neposrednoj blizini korjena.

Njihova korist ne staje samo u voćarskoj proizvodnji ili poljoprivredi, već u globalnom ekološkom kontekstu u vidu rješavanja brojnih problema kakvi nastaju kao produkti suvremenog života.

Mikorizne gljive predstavljaju nužan preduvjet za vraćanje globalne ekološke ravnoteže.

Bilo kakvi pokušaji vraćanja prirodne ravnoteže, bilo da se radi o područjima oko rudnika čije je tlo postalo nepogodno za rast velikog broja biljaka, mjestima zahvaćenima ekološkim katastrofama ili bilo kojim lokacijama na kojima je iz nekog razloga otežana ili čak nemoguća sadnja drveća, neće se moći odvijati bez upotrebe mikoriznih gljiva.

Mikorizne gljive svojim grananjem kroz veliki volumen tla, putem micelija koji može neograničeno rasti, imaju mogućnost takva područja ponovno učiniti pogodnima za rast vegetacije, bilo da se radi o pošumljavanju ili podizanju novih voćnjaka na tlima na kojima prethodno voćne vrste nisu rasle. Mogućnost rasta hifa kroz veliki volumen tla je posebno zanimljiva jer omogućava korištenje gljiva u svrhu razvoja novih biotehnologija, kao bioindikatori onečišćenja ili prisustva teških metala. Na taj se način mikorizne gljive mogu pokušati koristiti u borbi protiv otpuštanja i štete izazvanih ljudskim djelovanjem.

Još jedan zanimljiv primjer je upotreba gljive u filtraciji fekalnih otpadnih voda. Na taj se način može učinkovito spriječiti, ili barem smanjiti bakterijsko onečišćenje vodnih tokova.

Bilo da se radi o ekološkom ili poljoprivrednom kontekstu, bila bi velika šteta i propust zanemariti ove mikroorganizme u suvremenoj poljoprivrednoj i ekološkoj praksi.

10. LITERATURA

1. Aleandri M.P., Martignoni D., Reda R., Chilosi G. (2015). Effects of Preconditioning hrough Mycorrhizal Inoculation on the Control of Melon Root Rot and Vine Decline Caused by Monosporascus cannonballus. J Phytopathol 163 (2015) 898ï 907 < http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jph.2015.163.issue-11-12/issuetoc>
2. Alguacil M., Torrecillas E., Lozano Z., Torres M.P., Roldan A. (2014). Prunus persica Crop Management Differentially Promotes Arbuscular Mycorrhizal Fungi Diversity in a Tropical Agro-Ecosystem. PLoS ONE 9(2): e88454 < www.plosone.org>
3. Almeida A.M., Freire Gomes V.F., Mendes Filho P.F., Feitosa de Lacerda C., Dias Freitas E. (2016). Influence of salinity on the development of the banana colonised by arbuscular mycorrhizal fungi. Revista Ciência Agronómica, v. 47, n. 3, p. 421-428 < www.ccarevista.ufc.br>
4. Ban D., Goreta Ban S., OplaniĆ M., Horvat J., Novak B., ÇaniĆ K., ÇnidarĻ iĆ D. (2011). Growth and yield response of watermelon to in-row plant spacings an mycorrhiza. Chilean Journal of Agricultural research 71(4) < http://www.scielo.cl/pdf/chiljar/v71n4/at01.pdf>
5. Baum C., El-Tohamy W., Gruda N. (2015). Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: A review. Scientia Horticulturae 187 (2015) 131ï 141 < www.elsevier.com/locate/scihorti>
6. Blaģinkov, M., (2006.). GenetiĻka raznolikost prirodnih populacija *Rhizobium leguminosarum bv.viciae* u tlima ekologķkog podruĻja sjeverozapadne Hrvatske. Doktorska disertacija, Agronomski fakultet, SveuĻiliģte u Zagrebu
7. Bona E., Lingua G., Manassero P., Cantamessa S., Marsano F., Todeschini V., Copetta A., DôAgostino G., Massa N., Avidano L., Gamalero E., Berga G. (2014). AM fungi and PGP pseudomonads increase flowering, fruit production, and vitamin content in strawberry grown at low nitrogen and phosphorus levels. Mycorrhiza (2015) 25:181ï 193 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25169060
8. Bowles T.M., Barrios-Masias F.H., Carlisle E.A., Cavagnaro T.R., Jackson L.E. (2016). Effects of arbuscularmycorrhizae on tomato yield, nutrient uptake,water relations, and soil carbon dynamics under deficit irrigation in field conditions. Science

of the Total Environment 566ï 567 (2016) 1223ï 1234 < www.elsevier.com/locate/scitotenv>

9. Calvo-Polanco M., Sanchez-Castro I., Cantos M., Garcia J.L., Azcon R., Ruiz-Lozano J.M., Beuzon C.R., Aroca R. (2016). Effects of different arbuscular mycorrhizal fungal ackgrounds and soils on olive plants growth and water relation properties under well-watered and drought conditions. Plant, Cell and Environment (2016) 39, 2498ï 2514 v < http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pce.v39.11/issuetoc>
10. Castillo C., Sotomayor L., Ortiz C., Leonelli G., Borie F., Rubio R. (2009). CHILEAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH 69 (1): 79-8 < https://doaj.org/article/2125a414fa2c436aab9a071457b39422>
11. Cavagnaro T.R., Barrios-Masias, F.H., Jackson L.E. (2012). Arbuscular mycorrhizas and their role in plant growth, nitrogen interception and soil gas efflux in an organic production system. Plant Soil (2012) 353:181ï 194 <https://www.researchgate.net/publication/225551112_Arbuscular_mycorrhizas_and_their_role_in_plant_growth_nitrogen_interception_and_soil_gas_efflux_in_an_organic_production_system >
12. Cavagnaro T.R., Bender S.F., Asghari H.R., Heijden M.G.A. (2015). The role of arbuscular mycorrhizas in reducing soil nutrient loss. Trends in Plant Science, May 2015, Vol. 20, No. 5 < http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2015.03.004>
13. Cecatto A.P., Ruiz F.M., Oliveira Calvete E., Martinez J., Palencia P. (2016). Mycorrhizal inoculation affects the phytochemical content in strawberry fruits Maringá, v. 38, n. 2, p. 227-237 < http://www.uem.br/acta>
14. Chialva M., Zouari I., Salvioli A., Novero M., Vrebalov J., Giovannoni J.J., Bonfante P. (2016). Gr and hp-1 tomato mutants unveil unprecedented interactions between arbuscular mycorrhizal symbiosis and fruit ripening. Planta (2016) 244:155ï 165 < https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00425-016-2491-9>
15. Copetta A., Bardi L., Bertolone E., Berta G. (2011). Fruit production and quality of tomato plants (Solanum lycopersicum L.) are affected by green compost and arbuscular mycorrhizal fungi. Plant Biosystems, Vol. 145, No. 1, < http://www.tandfonline.com/toc/tplb20/145/1 >
16. Derelle D., Courty P., Dajoz I., Declerk S., Aarle I.M., Carmignac D., Genet P. (2015). Plant identity and density can influence arbuscular mycorrhizal fungi colonization, plant growth, and reproduction investment in coculture. Botany 93: 405ï 412 < http://dx.doi.org/10.1139/cjb-2014-0180>

17. Druġliĺ Orliĺ J., (2004.). Utjecaj arbuskularno mikoriznih gljiva roda *Glomus* na rast i razvoj voĺne podloge *Prunus cerasifera* L. klon MrS 2/5. Magistarski rad, Agronomski fakultet, Sveuļiliġte u Zagrebu
18. Forge T., Neilsen G., Neilsen D. (2015). Organically acceptable practices to improve replant success oftemperate tree-fruit crops. Scientia Horticulturae 200 (2016) 205ï 214 < www.elsevier.com/locate/scihorti >
19. Franca A.C., Flavia de Freitas A., Aparecido dos Santos E., Grazziotti P.H., Carvalho de Andrade Junior V. (2016). Mycorrhizal fungi increase coffee plants competitiveness against Bidens pilosa interference. < http://www.revistas.ufg.br/pat>
20. Guissou T., Babana A.H., Sanon K.B., Ba A.M. (2016). Effects of arbuscular mycorrhizae on growth and mineral nutrition of greenhouse propagated fruit trees from diverse geographic grovenances. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2016 20(3), 417-426 < http://www.pressesagro.be/ojs/index.php/base/article/viewFile/1841/826>
21. Husnjak S., (2014). Sistematika tala Hrvatske. Hrvatska Sveuļiliġna Naklada, Zagreb
22. Imamura A., Yumoto T. (2007.) Dynamics of fruit-body production and mycorrhiza formation of ectomycorrhizal ammonia fungi in warm temperate forests in Japan. Mycoscience (2008) 49:42ï 55 < https://link.springer.com/article/10.1007/s10267-007-0393-1>

    In: Mycorrhiza: Occurrence in Natural and Restored Environments, Nova Science Publishers, 975-1-61209-226-3
23. Javanmardi J., Zarei M., Saei M. (2014). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on physiology and fruit quality of Pepino (Solanum muricatum Ait.) in vermicompost amended medium. Adv. Hort. Sci., 2014 28(1): 35-42 < http://web.b.ebscohost.com >
24. Kara Z. Arslan D. Guler M. Guler S. (2015). Inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and application ofmicronized calcite to olive plant: Effects on some biochemicalconstituents of olive fruit and oil. Scientia Horticulturae 185 (2015) 219ï 227 < www.elsevier.com/locate/scihorti>
25. Kaya C., Ashraf M., Sonmez O., Aydemir S., Tuna A.L., Cullu M.A. (2009). The influence of arbuscular mycorrhizal colonisation on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity. Scientia Horticulturae 121 (2009) 1ï 6 < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030442380900003X>
26. Kaya C., Higgs D., Kirnak H., Tas I. (2003). Mycorrhizal colonisation improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (Citrullus lanatus Thunb.) grown under

well-watered and water-stressed conditions. Plant and Soil 253: 287ï 292 <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1024843419670>

27. Koc A. (2015.) Effect of plant growth-promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on lipid peroxidation and total phenolics of strawberry (Fragaria × ananassa óSan Andreasô) under salt stress. Turk J Agric For (2015) 39: 992-998 <http://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/ >
28. Koron D., Sonjak S., Regvar M. (2014). Effects of non-chemical soil fumigant treatments on root colonisation with arbuscular mycorrhizal fungi and strawberry fruit production. Crop Protection 55 (2014) 35e41 < www.elsevier.com/locate/cropro>
29. Latef A.A.H.A., Chaoxing H. (2011). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. Scientia Horticulturae 127 (2011) 228ï 233 < www.elsevier.com/locate/scihorti>
30. Maboko M.M., Bertling I., Du Plooy C.P. (2013). Effect of Arbuscular Mycorrhiza and Temperature Control on Plant Growth, Yield, and Mineral Content of Tomato Plants Grown Hydroponically. HORTSCIENCE 48(12):1470ï 1477. 2013. <http://hortsci.ashspublications.org/content/48/12/1470.full.pdf >
31. Manian S., Sreenivasaprasad S., Mills P.R. (2001).DNA extraction method for PCR in mycorrhizal fungi. Letters in Applied Microbiology 2001, 33, 307-310 < http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1472-765X.2001.01001.x/pdf>
32. Miyasaka S.C., Habte M., Friday J.B., Johnson E.V. (2003). Manual on Arbuscular Mycorrhizal Fungus Production and Inoculation Techniques. Soil and Crop Management, SCM-5 <https://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/SCM-5.pdf>
33. Ortas I., Ustuner O. (2014). The effects of single species, dual species and indigenous mycorrhiza inoculation on citrus growth and nutrient uptake. European Journal of Soil Biology 63 (2014) 64e69 < http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2014.05.007>
34. Oye Anda C.C., Dupre de Boulois H., Declerck S. (2014). The arbuscular mycorrhiza fungus Rhizophagus irregularis MUCL 41833 decreases disease severity of Black Sigatoka on banana c.v. Grande naine, under in vitro culture conditions. Fruits, 2015, vol. 70(1), p. 37-46 <http://www.pubhort.org/fruits/2015/1/fruits140041.htm>
35. Oztekin, G.B., Tuzel Y., Tuzel H. (2012). Does mycorrhiza improve salinity tolerance in grafted plants. Scientia Horticulturae 149 (2013) 55ï 60 < www.elsevier.com/locate/scihorti>
36. Pagano M.C., Cabello M.N. (2012). Ocurrence of Mycorrhizas in Highland Fileds.

37. Paul E.A., Clark F.E. (1998). Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, San Diego
38. Pohajda, I., (2011.). Simbiozna uļinkovitost autohtonih sojeva *Rhizobium spp*. izoliranih iz tala Zagrebaļke ģupanije. Disertacija, Agronomski fakultet, Sveuļiliģte u Zagrebu
39. Reddy S.R., Pindi P.K., Reddy S.M. (2005). Molecular methods for research on arbuscular mycorrhizal fungi in India: problems and prospects. CURRENT SCIENCE, VOL. 89, NO. 10 < https://pdfs.semanticscholar.org/e9ef/6bf953db488ad91193a4435f3cb371d7181e.pdf >
40. Sabella E., Nutricati E., Aprile A., Miceli A., Negro C., Rampino P., Lenucci M. De bellis L. (2016). Tuber borchii Vitt. mycorrhiza protects Cistus creticus L. from heavy metal toxicity. Environmental and Experimental Botany 130 (2016) 181ï 188 < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847216301113>
41. Salvioli A., Zouari I., Chalot M., Bonfante P. (2012). The arbuscular mycorrhizal status has an impact on the transcriptome profile and amino acid composition of tomato fruit. BMC Plant Biology 2012, 12:44, < http://www.biomedcentral.com/1471-2229/12/44>
42. Sasvari Z., Magurno F., Galanics D., Hang T.T.N., Ha T.T.H., Luyen N.D., Huong L.M., Posta K. (2012). Isolation and Identification of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from Agricultural Fields of Vietnam. American Journal of Plant Sciences, 2012, 3, 1796-1801 < http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2012.312A220 >
43. Seifi E., Teymoor Y.S., Alizadeh M., Fereydooni H. (2014). Olive mycorrhization: Influences of genotype, mycorrhiza, andgrowing periods. Scientia Horticulturae 180 (2014) 214ï 219 < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423814005913>
44. Shu B., Li W., Liu L., Wei Y., Shi S. (2016.) Effects of girdling on arbuscular mycorrhizal colonization and roothair development of litchi seedlings Scientia Horticulturae 210 (2016) 25ï 33 < www.elsevier.com/locate/scihorti >
45. Smith S.E., Read D.J. (1996). Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, San Diego
46. Stamets P. (2005). Mycelium running. Ten Speed Press, Berkley
47. Subba Rao N.S. (1999). Soil Microbiology. Science Publishers, Inc., Plymouth
48. Suchitra R, Kumutha K., Balachandar D. (2012). Morpho-Typing and Molecular Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Sub-Tropical Soils of Coimbatore

Region, Tamil Nadu, India. Indian J Microbiol. 2012 Jun; 52(2): 145ï 152. < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3386459/>

49. Suz L.M., Azul A.M., Morris M.H., Bledsoe C.S., Martin M.P. (2008). Morphotyping and Molecular Methods to Characterize Ectomycorrhizal Roots and Hyphae in Soil. Soil Biology 15, DOI: 10.1007/978-3-540-75575-3 < http://cfe.uc.pt/files/Suz-Azul-Morris-Bledsoe-Martín%20Springer_Chapter.pdf >
50. Sylvia D.M., Fuhrmann J.J., Hartel P.G., Zuberer D.A. (2005). Principles and Applications of Soil Microbiology. Prentice Hall, New Jersey
51. Tarkka M., Frey-Klett P. (2008). Mycorrhiza helper Bacteria. U: Mycorrhiza (Varma A.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg <https://www.researchgate.net/publication/278717863_Mycorrhiza_Helper_Bacteria>
52. Trouvelot S., Bonneau L. Redecker D., Tuinen D., Adrian M., Wipf D. (2015). Arbuscular mycorrhiza symbiosis in viticulture: a review. Agron. Sustain. Dev. (2015) 35:1449ï 1467 < https://link.springer.com/article/10.1007/s13593-015-0329-7>
53. Upreti K.K., Bhatt R.M., Panneerselvam P., Varalakshmi L.R. (2015). Morpho-Physiological Responses of Grape Rootstock ôDogridgeô to Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculation Under Salinity Stress. INTERNATIONAL JOURNAL OF FRUIT SCIENCE 2016, VOL. 16, NO. 2, 191ï 209 < http://dx.doi.org/10.1080/15538362.2015.1111185 >
54. Vasilj, V., (2013.). Genetska identifikacija i simbiozna uļinkovitost autohtonih sojeva *Rhizobium leguminosarum bv.viciae* izoliranih iz razliļitih tipova tala Hercegovine. Doktorski rad, Agronomski i prehrambeno tehnoloġki fakultet, Sveuļiliġte u Mostaru
55. Vukadin, B., (2014.), Znaļaj i primjena mikoriznih gljiva u odrġivoj poljoprivredi i ġumarstvu. Diplomski rad, Agronomski i prehrambeno-tehnoloġki fakultet, Sveuļiliġte u Mostaru
56. Walker C. (1999). Methods for culturing and isolating arbuscular mycorrhizal fungi. Mycorrhiza News 11(2) < https://www.researchgate.net/publication/230752336 >
57. Waters E.K., Scagel C. F., McLean C. (2008). A Survey of Vaccinium Cultural Practices in Australia Emphasizing Implications for Mycorrhizal Infection. International Journal of Fruit Science, Vol. 8(1ï 2), < http://www.haworthpress.com>
58. Wu Q., Liu C-Y., Zhang D., Zou Y., He X., Wu Q. (2016). Mycorrhiza alters the profile of root hairs in trifoliate orange. Mycorrhiza (2016) 26:237ï 247 < https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-015-0666-z>

59. Yao Y., Lou Y., Zhang Z., Jin L., Li C., Su F., Pei X., Wu Q., Yang S. (2016). Common mycelium network of mycorrhizas alters plant biomass and soil properties between trifoliate orange seedlings. Emirates Journal of Food and Agriculture. 2016. 28(4): 257-263 <http://www.ejfa.me/>
60. Zou Y., Wu Q. (2011). Efficiencies of five arbuscular mycorrhizal fungi in alleviating salt stress of trifoliate orange. Int. J. Agric. Biol., 13: 991ï 995 < http://www.fspublishers.org >
61. Zou Y-N., Srivastava A.K., Wu Q-S. (2016). Glomalin: a potential soil conditioner for perennial fruits. Int. J. Agric. Biol., 18: 293ڭ297 < http://www.fspublishers.org>

Internetske stranice:

1. https://en.wikipedia.org/wiki/Polymerase_chain_reaction (Pristupljeno: 7. Oģujka 2017.)
2. https://en.wikipedia.org/wiki/Primer_(molecular_biology (Pristupljeno: 7 oģujka 2017.)
3. https://en.wikipedia.org/wiki/Restriction_fragment_length_polymorphism (pristupljeno (9. Oģujka 2017.)
4. https://www.sciencelearn.org.nz/resources/2031-DNK-cloning (Pristupljeno: 10. Oģujka 2017.)
5. http://mycorrhizae.org.in (Pristupljeno: 10. Oģujka 2017.)
6. https://hr.wikipedia.org/wiki/Gljive (Pristupljeno: 10. Oģujka 2017.)
7. https://hr.wikipedia.org/wiki/Sklerocij (Pristupljeno: 15. Oģujka 2017.)
8. http://bioteka.hr/modules/lexikon/entry.php?entryID=133 (Pristupljeno: 15. Oģujka 2017.)
9. http://archive.bio.ed.ac.uk/jdeacon/microbes/biotroph.htm (Pristupljeno: 15. Oģujka 2017.)
10. https://hr.wikipedia.org/wiki/Parazitizam/ (Pristupljeno: 5. Oģujka 2017.)
11. http://www.agroklub.com/eko-proizvodnja/mikoriza-nova-tehnologija-u-poljoprivredi/21940/ (Pristupljeno: 5. Oģujka 2017.)
12. https://bs.wikipedia.org/wiki/Mikoriza#Tipovi_mikorize (Pristupljeno: 5. Oģujka 2017.)
13. http://www.davidmoore.org.uk/assets/mostly_mycology/diane_howarth/arbutoid.htm (Pristupljeno: 8. Oģujka 2017.)

14. http://www.davidmoore.org.uk/assets/mostly_mycology/diane_howarth/monotropoid.htm (Pristupljeno: 8. Oǵujka 2017.)
15. https://en.wikipedia.org/wiki/Mycorrhiza#Monotropoid_mycorrhiza (Pristupljeno: 8. Oǵujka 2017.)
16. https://bs.wikipedia.org/wiki/Mikoriza#ErikoiDNK_mikoriza (Pristupljeno: 8. Oǵujka 2017.)
17. https://en.wikipedia.org/wiki/Leaching_(agriculture (Pristupljeno: 6. Oǵujka 2017.)
18. http://www.growingproduce.com/vegetables/getting-to-the-root-of-improved-fruit-and-vegetable-production/ (Pristupljeno: 10. Oǵujka 2017.)
19. http://www.motherearthnews.com/organic-gardening/gardening-techniques/mycorrhizal-fungi-zm0z14aszkin (Pristupljeno: 15. Oǵujka 2017.)

ŽIVOTOPIS

Studentica Andrea CimpriĆ roĽena je 29. OćujKa 1992. Godine u Zagrebu. Osnovnu i srednju ćkolu pohaĽala je u Zagrebu, gdje je 2010. godine maturirala u Upravnoj i birotehniļkoj ćkoli, smijer poslovni tajnik. Tokom srednje ćkole zavrćila je teļaj fotografije u foto klubu Zagreb. Nakon mature upisuje preddiplomski studij Hortikulture na Agronomskom fakultetu Sveuļilićta u Zagrebu, a zatim 2013. godine diplomski studij VoĆarstva takoĽer na Agronomskom fakultetu sveuļilićta u Zagrebu.

Za vrijeme studija studentica je stjecala radno isustvo u Tiskari Zagreb d.o.o., 2011. god., Veļernjem listu, 2012. god., te od 2014. godine do danas radi u Business sales odjelu u Tele2. U jesen 2015. godine upisuje Callegari ćkolu mode i dizajna, smijer vizaćist, te istu zavrćava u jesen 2016. godine te od tad radi kao asistent ćminke na brojnim filmovima i televizijskim reklamama. U slobodno vrijeme studentica se bavi borilaļkim vjećinama, plesom te rezbarenjem drveta.