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: **2024-03-29**

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 korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveuļilišnog ili struļnog studija;
- da je elektroniļka verzija ovoga diplomskog rada identiļna tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etiļkog kodeksa Sveuļilišta 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 Cimpriĺ, 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 načine 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 kontektstu 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 otpuštajući 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 ograničena 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;

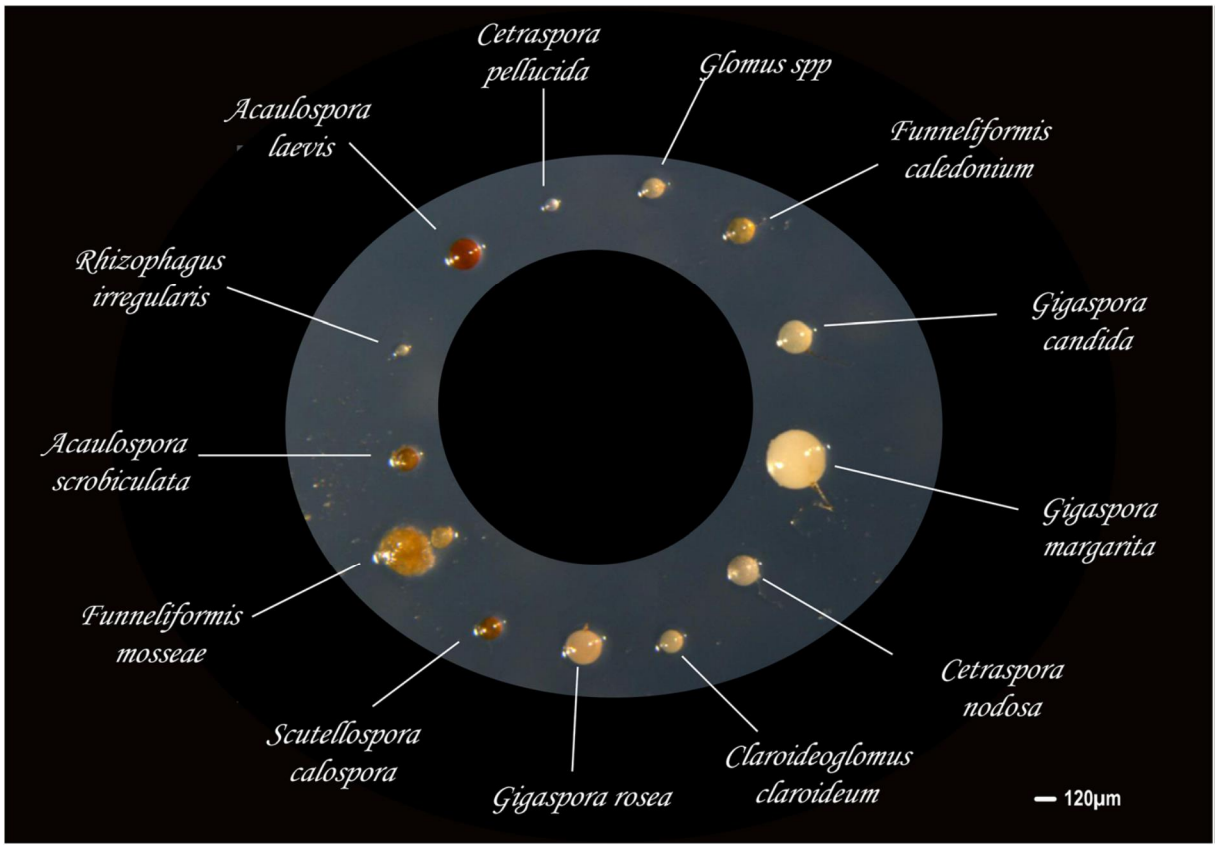
i iako ne sadrže klorofile, i dalje posjeduju sličnosti sa biljkama u tome što su slabo pokretne i imaju stanične stijenke, međutim morfološki su ipak sličnije životinjama nego biljkama.

2.3.Širenje gljiva u tlu

Gljive se služe micelijem kako bi se kružno širile u tlu, pri čemu 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 suštini 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 vašnost 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 sferični, očvrsnuli micelij koji se sastoji od isprepletenih hifa a u svojem je središtu sličan biljnom parenhimskom tkivu, mekutim 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 čini i dugovječnijim od micelija. Njegova uloga je također pohrana lipida, ugljikohidrata i proteina sve dok se uvjeti u tlu ne pokažu povoljnima za razmnožavanje, nakon čega 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 različitim uvjetima stresa i na taj način povećavaju vjerojatnost seksualne reprodukcije.

2.4. Hranidbeni obrasci i mehanizmi preživljavanja gljiva

Kao heterotrofni organizmi gljive nalaze hraniva iz organske tvari u okolišu. Obzirom na različite tipove gljiva i njihovu različitu morfologiju, i hranidbeni obrasci se razlikuju. Tako saprofiti, odnosno gljive koje razlažu mrtvu organsku tvar, rastu u aerobnim uvjetima i izuzeto su važni za proces mineralizacije tla. Kod hifa i kvasaca, hraniva se usvajaju kroz stanične stijenke. Gljive su sposobne tražiti i usvajati hraniva čak i onda kada ona nisu ravnomjerno raspoređena u tlu. To je moguće zahvaljujući miceliju, odnosno načinu 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 tražiti 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 razmnožavanja. Kada se nedostatak hraniva proširi na veće područje, gljive često preživljavaju tako da pohranjuju dostupna hraniva u spore i onda ih raspršuju 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 okolišnim 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 razmnožavanje sporama, kako bi osigurale nastavak vrste čak i u nepovoljnim okolišnim uvjetima. Gljiva proizvodi spore, odnosno organe obavijene debelom stijenkom koja ih štiti od nepovoljnih okolišnih uvjeta. U takvim slučajevima, kada je iz nekog razloga ograničen rast, gljiva je potaknuta na sporulaciju kako bi osigurala dalekosežno raspršivanje. Spora je tada u fazi mirovanja sve dok se okolišni 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 doseĺi zrelost bez simbioznih asocijacija sa gljivama, o kakvima je rijeļ u ovom radu. Ove asocijacije pokazuju neizmjeran potencijal ne samo u poljoprivrednoj proizvodnji veĺ za ekologiju, za bioodrģivost i rješavanje pitanja zagaĽenja okoliša i poboljšanja svojstava tla.

3. Mikorizne asocijacije

Termin Ămikorizne asocijacijeň odnosi se na simbiozne odnose izmeĽu gljiva i korjenovog sustava viġih biljaka. Prevedeno, Ămikorizaň znaļ i Ăgljiviļ no korjenjeň (Subba Rao, 1999) pri ļemu simbiozni odnos podrazumijeva zajedniļ ki suġivot izmeĽu dvaju (u nekim sluļ ajevima i viġe) razliļ itih organizama u kojemu i jedan i drugi ļ lan ima korist. Termin Ăsymbiotismusň (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 razliļ itih organizama. Primjerice, simbioza gljive i alge kod liġajeva. Kod takvih mutualistiļ kih 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 domaĺ ina.

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

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

Nedavna ispitivanja utvrdila su postojanje arbuskularnih mikoriza ili mikoriza gljiva iz roda *Glomus* sa izumrlom biljkom *Aglaophyton major*, naĽene u ġkotskom roġnjaku, odnosno silicijskoj sedimentnoj stijeni, ġto dokazuje postojanje arbuskularnih mikoriza u doba ranog devona (Smith i Read, 1996). Takvi fosilni nalazi upuĺuju da je upravo zahvaljujuĺi mikoriznim asocijacijama doġlo do kolonizacije kopna, iz ļega se moġe sa sigurnoġĺu utvrditi da je vaġnost mikoriznih asocijacija neprocjenjiva ne samo u agronomskom veĺ i u ekoloġkom kontekstu i u kontekstu bioodrġivosti.

Bilo da korist mikoriznih asocijacija promatramo iz ekoloġkog ili agronomskog gledġta, u oba sluļaja korist proizlazi iz kritiļne veze, koju mikorizna gljiva tvori izmeĽu biljnog korjena i tla (Sylvia i sur., 2005). Buduĺi da gljive imaju sposobnost prikupljati hraniva iz otopine tla na podruļjima do kojih biljni korjen ne dopire, hife koje se ġire u tlu poveĺavaju efektivnu upijajuĺu povrġinu biljke. Samim time gljiva biljci omoguĺava usvajanje hraniva i u sluļajevima kada tlo nije bogato hranivima ili vodom. Na taj naļin biljci omoguĺava rast i reprodukciju u uvjetima u kojima biljka to ne bi mogla samostalno, ili ne bi mogla jednako uļinkovito sama usvajati hraniva, ġto dalje vodi ka poboljġanom rastu i razvoju u nepovoljnim uvjetima za biljku. Iz toga je vidljivo da gljiva poboljġava kompetitivnost biljke i ļini ju otpornijom na okoliġne stresove u odnosu na biljke koje nisu mikorizirane.
Prema Paulu i Clarku (1998), odnos izmeĽu finih korjenovih dlaļica, kakve posjeduju trave, i mikoriza je uglavnom negativan. Vrste koje posjeduju fino korjenje sa brojnim korjenovim dlaļicama nisu toliko ovisne o svojim mikoriznim gljivama za usvajanje hraniva, na naļin na koji su ovisne leguminoze ili vrste sa grubljim korjenjem poput naranļi. Zajedniļki faktor takvih biljaka koje tvore mikorize je njihova sposobnost da utjeļu 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 nalin hife gljiva dolaze u kontakt sa korjenom biljke domalina. Najjednostavnije releno ektomikorizne gljive ne prodiru u stanice korjena dok endomikorizne gljive prodiru u samu stanicu. Pritom lesto dolazi do formiranja specifilnih organa, odnosno struktura koje sluge za izmjenu hranjivih tvari sa biljkom. TakoLer razlikujemo i ektendomikorizu, koja se odnosi na sluajeve kada hifa ektomikoriznih gljivica ponekad ipak uLe u biljnu stanicu. Kada je obrambeni mehanizam vigeg simbionta smanjen, kao gto je to kod starog ili bolesnog drvela, nigi simbiont moge postati endotropan. Takvi primjeri se nazivaju ektoendotropne mikorize ili ektendomikorize.

TakoLer je poznat i naziv pseudomikorize, koji se odnosi na tanko i dugalko korjenje inficirano gljivama. Gljive su intracelularne u takvog korjenja i teglko 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 vela ektomikoriznih gljiva sposobna formirati intracelularne veze u starijim dijelovima korjena ili u sluajevima kada je iz nekog razloga poremela ravnotage hraniva ï u takvim okolnostima zabiljegeno je da se gljiva ponaga blago patogeno, meLutim naziv pseudomikoriza je nedovoljno precizan pa korigtenje takvog termina nema dovoljno jako uporigte.

Kod takvih sluajeva kada dolazi do ulaska gljive u zdravu korjenovu stanicu hifa moge potjecati ili iz Hartigove mrege ili iz hifa koje tvore omotal oko korjena. Neke gljive, kao promjerice *Wilcoxina mikolae* imaju sposobnost diferencirati izmeLu 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).

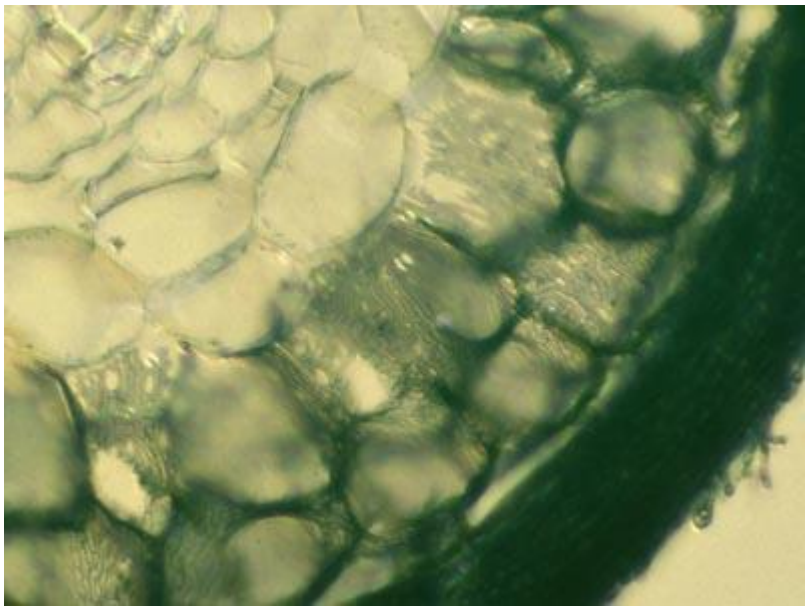
4. Ektomikoriza

Ektomikorize su simbiozni odnosi u kojima hifa gljive dolazi u kontakt sa korjenom biljke meĽutim ne ulazi u njezin unutarstanij ni prostor. Sastoje se od triju strukturalnih komponenti: vanjskog omotaj a koji se formira oko korjena, labirinta hifa koje rastu prema epidermalnim i kortikalnim stanicama koje se zovu Hartigova mređa (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 mođe inducirati razvijanje sporokarpa (Imamura i Yumoto, 2007). Plašt, tj. omotaj 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 drveĺa i grmlja iz umjerenog pojasa (Paul i Clark 1998).

4.1.Morfologija ektomikoriza

Kod ektomikoriznih asocijacija morfologija korjena biljke je nešto drugaj ija, pa tako korjen na sebi ne sadrži korjenove dlaj ice veĺ je prekriven hifama gljive i taj se sloj naziva pseudoparenhimski omotaj te on posve prekriva upijajuĺ i dio korjena (Subba Rao (1999). Omotaj poveĺava upijajuĺ u površinu korjena i j esto utej e na njegovu morfologiju što rezultira raj vanjem i grupiranjem - ovaj tip organa j ini jasnu razliku izmeĽu ektomikoriza i ostalih tipova mikoriza upravo zato što ne dolazi do intracelularnog prodiranja od strane gljive (Smith i Read, 1996). Ľesto se niti hifa združuju i tvore rizomorfe, vidljive golim okom, j iji 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 tvoreĺ i mrežu. Mehanizam translokacije hraniva je takav da gljiva usvaja hraniva putem pseudoparenhimskog omotaj a i zatim, služeĺ i se Hartigovom mređom kao posrednij kim 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 gljivinog simbionta ukoliko su hraniva dostupna, meĽutim 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 značajnih ektomikoriznih gljiva može se uzgajati bez prisustva biljke domaćina, što omogućava proizvodnju inokuluma. Inokulacija mikoriznom gljivom, primjerice *Pisolithus tinctouris* i *Telephora terrestrius* može značajno pojačati rast bora, naročito na područjima koja ne sadrže odgovarajuća hraniva te koja su zasićena toksičnim metalima ï 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) potvrĽuju 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, meĽutim 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 domaćini (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) utvrĽeno 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 širе 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 poneđe 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 značajna 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 krišnu inokulaciju sa nekim drugim domaćinom.

Gljiva u početnom stadiju kolonizacije raste između biljnih stanica, međutim vrlo uskoro dolazi do penetracije stanične stijenke nakon čega se rast nastavlja unutar biljne stanice. Pritom i gljivična i biljna stanična stijenka ostaju čitave te tokom rasta gljive membrana biljne stanice se omotava oko gljive te dolazi do formiranja novog odjeljka gdje se skladište molekularno složen materijal.

Ovakav mehanizam sprječava direktni kontakt između gljive i biljne citoplazme pa je moguće učinkovitiji prijenos hraniva u apoplastu.

Prijenos hraniva između biljke i gljive odvija se između fino razgranatog micelija i staničnih membrana biljke. Kod arbuskularne stanice je težina biljnog citoplazmatskog materijala 20 puta veća 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. Nekoć se za takve strukture u formativnom stadiju koje se nalaze na eksterijeru mikorize smatralo da su vezikule, međutim 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 došlo do formacije pomoćnih stanica i azigospora, odnosno sporama koje se nespolno razvijaju iz hifa gljiva i uzrokuju gomoljaste izrasline (Sylvia i sur., 2005).

Prisustvo arbuskularnih mikoriza nije moguće utvrditi golim okom. Za uspješnu identifikaciju i potvrđivanje prisustva mikorize nužno je da iskusna osoba, dobro upoznata sa strukturom, veličinom i izgledom stijenki spora, promotri veći broj spora pod mikroskopom. Kod ovih mikoriza veličina pojedinačnih spora može biti između 10 i 400µm u promjeru, ali najčešće je to između 10 i 200µm. Također 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 vrši pregledom morforogije spora u stadiju mirovanja. Razlika između navedenih rodova očituje se u tome što se kod rodova *Gigaspora* i *Acaulospora* klijanje odvija kroz stijenke spora, dok su rodovi *Glomus* i *Sclerocystis* karakteristični po tome da do klijanja dolazi iz novog rasta priđvršćenih 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 slaġe 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 ġirok 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 istraġeno te da da su naġa saznanja o mikoriznom statusu nekih rodova u najmanju ruku neiscrpna. Moġe se reĺi da okvirno 95% danaġnjih 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 ġto se moġe reĺi sa sigurnoġĺu jest da ġto se viġe istraġivanja provodi i ġto se viġe biljnih vrsta ispituje, proporcionalno raste i broj biljnih vrsta za koje se ispostavlja da tvore mikorizne asocijacije.

Unatoļ tomu ġto 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 danaġnji pripadnici roda *Glomales*. Mnogo je fosilnih nalaza koji potvrĽuju postojanje arbuskularnih mikoriza, od kojih su neki stariļak 410 do 440 milijuna godina.

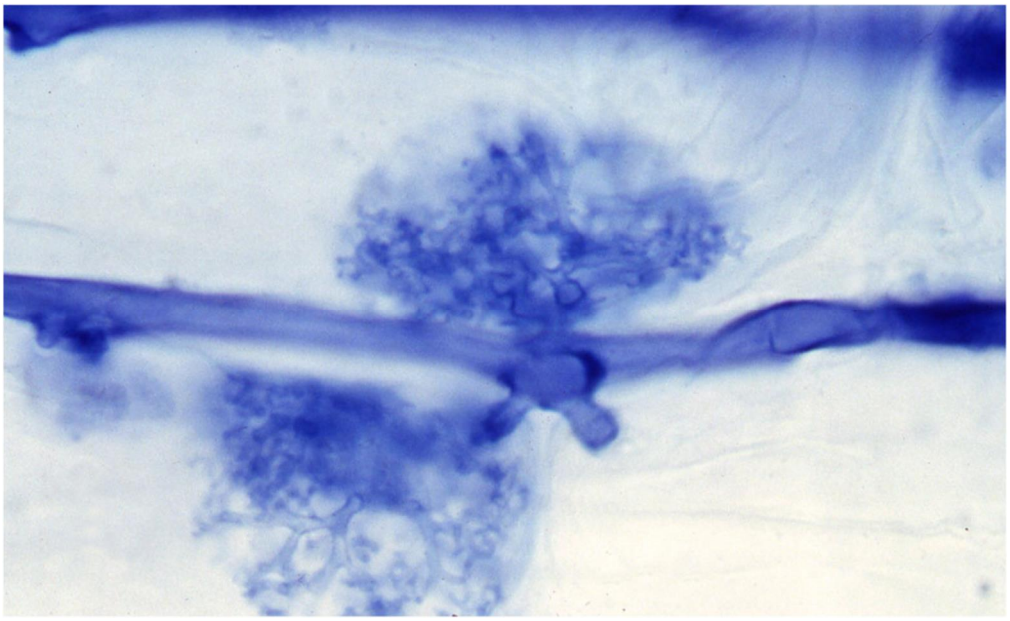
5.3. Morfologija i anatomija arbuskularnih gljiva

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

Paris tip kolonizacije karakteristiļan je po tome ġto se intracelularni namotaji hifa razvijaju popriliļno ekstenzivno, na naļin da se direktno ġire 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 naročito brza u usporedbi s Arum-tipom, te nije poznato koliko je ovo čest tip mikoriza. Ovaj tip mikoriza prisutan kod velikog broja šumskih biljaka.

Arum tip kolonizacije je ono što ćemo danas prepoznati kao tipične arbuskularne mikorize. Autori također navode da je kod ovog tipa mikoriza čest brzorastući korjenov sustav kod usjeva te da je za ovaj tip karakteristično da se putem intercelularnih hifa, koje se protežu kroz zračne prostore u stanici, gljiva brzo širi 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 što cijeli proces čini dinamičnim. Za vrijeme apikalnog rasta korjena putem diobe stanica, elogancije i diferencijacije dolazi do razvoja lateralnih korjenčića dok istovremeno gljiva proizvodi primarne i sekundarne strukture koje inficiraju korjen a čija brzina rasta direktno utječe na infekciju.

Korjen može doći u kontakt sa gljivom putem spora (koje posjeduju širok spektar metoda raspršivanja, primjerice putem vode ili zraka), zaraženih djelića korjena ili putem hifa odnosno propagula. U tlu nalazimo na spore različitih oblika i veličine i naravno u različitim

stadijima mirovanja ï na taj naļin osigurava se konstantan izvor inokuluma u tlu. Iako se godinama smatralo da su spore najvaģniji izvor infekcije, pokazalo se da spore nisu nuģno vaģne u najranijim stadijima kolonizacije korjenovog sustava.
Ispostavilo se da su, unatoļ tome ģto su spore najbolji izvor inokuluma, zapravo prethodno zaraģeni djeliĺ i korjena i ekstenzivne hifne mreģe glavno sredstvo kolonizacije biljaka ļ ak i onda kada je prisutna viģe nego dostatna populacija spora u tlu.

Nakon ģto se gljiva probije kroz vanjski zid epidermalnih stanica nakon dva do tri dana dolazi do stvaranja apresorija, ģto ukazuje na to da je gljiva prepoznala biljku kao domaĺ ina te dolazi do suģavanja hife gljiva kako bi se formirala infekcijska klica. Za stupanje u kontakt sa biljkom domaĺ inom odgovorne su hife velikog promjera koje se probijaju kroz epidermalne stanice biljke. U ovom stadiju gljiva poļ inje lokalizirano izluļ ivati hidrolitske enzime koji degradiraju stijenku te istovremeno vrġak hife vrġi hidrostatski pritisak na stanicu. U ovoj fazi biljka domaĺ in prepoznaje gljivu, ģto je vidljivo iz odebljanja epidermalne stijenke koja se nalazi uz penetrirajuĺ u hifu. Mnogi autori dokazali su da dolazi do promjena u strukturi biljnih lamela kada hife doĽu u intercelularni prostor te je dokazano djelovanje gljiviļ nog enzima pektinaze (Smith i Read, 1996).

Nakon formiranja apresorija slijedi grananje hifa te one ulaze u srediġnji i unutraġnji dio korteksa biljke i zatim nastavljaju svoj rast u meĽustaniļ nom prostoru. Grane hifa omoguĺ uju rast arbuskulama, pri ļ emu se najstarije arbuskule nalaze najbliģe mjestu infekcije. Nakon ģto 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 zaġto je ģivotni vijek arbuskula tako kratak buduĺ i da niti jedna od teorija nije dokazana, no najvjerojatnijim se ļ ini da ju biljna stanica probavi.
Kako prolazi tijek infekcije, dolazi do stvaranja vezikula, ovisno o vrsti gljive u pitanju buduĺ i da svi rodovi ne proizvode vezikule, kao ģto su primjerice rodovi mikoriznih gljiva *Scutellospora* i *Gigaspora*. Velike koncentracije fosfora u tlu inhibiraju rast vezikula iz ļ ega se moģe sa sigurnoģĺ u zaključiti da su okoliġni uvjeti vaģni za razvoj ovih mikoriznih struktura.

Nakon inicijalnog kontakta i nakon ģto je zapoļ et rast hifa unutar korjena, vanjske hife postaju vaģan izvor inokuluma za daljnji tijek kolonizacije korjenovog sustava. Buduĺ i 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 počinje 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 sprječavaju 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

obuhvaĺa vanjski vanjski epidermalni sloj ali ne ulazi u korteks biljke veĺ jedna hifa raste u stanicama epiderme.

6.2. Erikoidne mikorize

Kod ovog tipa mikoriza stanice unutraġnje kore postaju ispunjene hifama, te iako hife dalje rastu preko povrġine korjenja, ne dolazi do stvaranja pravog omotaļa (Sylvia i sur., 2005). Erikoidne mikorize su nazvane po vrstama iz porodice *Ericaceae* te se smatraju ekoloġki najznaļajnijim 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, tipiļno samo na jednom spojnom mjestu, a ponekad dolazi do stvaranja apresorija. Toļan 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 ļesto nalazimo na tlima sa niġim sadrġajem dostupnih hraniva te se moġe logiļno zaključiti da biljke uspješan rast na ovim područjima uvelike duguju upravo asocijacijama sa erikoidnom gljivom. Pritom je moguĺe da mikorizna kolonizacija omogućava biljci pristup organskim izvorima duġika, na ġto 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 duġik stimulirao razvoj koloniziranih biljaka (Smith i Read, 1996.). Takoĺer je dokazano da gljiva *H. ericae* moġe koristiti proteine kao jedini izvor duġika. 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 takoĺer pristup duġiku, ġto ukazuje na znaļaj erikoidnih mikoriza, naroļito na područjima na kojima je tlo siromaġno hranivima kao ġto 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 ključnu 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 isključivo najkraće rute ka hitarici, pritom izbjegavajući slijepe ulice, što 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* najčešće 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 vagnosti koje imaju veliki potencijal za obnavljanje tala koja su siromagna hranivima, mogu sprijeljiti produbljivanje siromagtva. (Smith i Read, 1996)
Iz navedenih istragivanja i dosadagnjeg prouljavanja mikoriznih asocijacija je vidljiva neopisiva korist i bogatstvo kakvo ovi mikroorganizmi predstavljaju u borbi za okoligi i ekosustav te u borbi protiv ogteljenja i gtete izazvane ljudskim djelovanjem.

7.2.Gubitak hraniva ispiranjem

Otprilike polovica hraniva unesenih u tlo putem mineralnih gnojiva zavrgi u usjevima, gto znalji da postoji velika vjerojatnost da se ostatak gubi. Naroljito 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 gto su fosfor, kalij i cink su takoLer podlogna ispiranju i to u erozivnim procesima kada su vezani za organsku tvar ili koloide tla te ukoliko su natalogeni na organomineralnim kompleksima i kelatima.
Cavagnaro i sur. (2015) navode da gubici hraniva ispiranjem mogu iznositi ljak 160 kg dugika i do 30 kg fosfora godignje po hektaru. Na taj nalin mogge izgledno doli do kontaminacije tla putem vode i vodnih sustava gto dalje vodi ka eutrofikaciji, masovnom razmnogavanju algi te gubitku kopnene i vodene bioraznolikosti. Dugik se takoLer mogge gubiti iz tla putem emisija u plinove N_2O i N_2 i to u koliljinama koje mogu doseli i do 143 kg N/ha, makar toljne koncentracije variraju od studije do studije.

Buduli da se hife gljiva arbuskularnog tipa mikorize gire u tlu dalje nego gto prodire korjenje biljaka te dalje od nutritivno deficitarne zone do kakve dolazi u neposrednoj blizini korjena, gljiva je sposobna upijati hraniva iz veleg volumena tla te time pomagge biljci usvajati fosfor, cink, amonijak, nitrat, bakar i kalij; primjerice ljak je 90 % biljnog fosfora i 20 % dugika usvojeno upravo putem arbuskularne gljive. Iz navedenih se podataka mogge zakljuliti da gljive arbuskularnog tipa mikorize mogu smanjiti rizik gubitka hraniva putem njihove poboljgane imobilizacije u usporedbi sa nemikoriziranim biljaka, ili putem mijenjanja procesa krugenja hraniva i vode u tlu tako da poboljgavaju njihovo zadrgavanje u tlu.
Ovakvi gubici mogu biti gtetni za okoligi i skupi u pogledu izgubljenih prinosa. Biljke su evoluirale mnoge osobine u svrhu optimizacije usvajanja hraniva, ukljuljujuli i formaciju simbioze sa arbuskularnom gljivom. Sve je vige studija koje dokazuju da arbuskularni tip mikorize ima sposobnost reducirati gubitak hraniva iz tla putem poveljanja intercepcijske zone oko korjena i sprijeljavati ispiranje hraniva nakon kige (Cavagnaro i sur., 2015).

7.3. Ekološka važnost mikoriznih asocijacija

U tlu se dogaĽa proces ispiranja, odnosno drenaźe vode koja sadrźi otopine iz tla putem djelovanja filtracije i cijeĽenja.
U tom procesu dolazi do gubitka znaļajnih koliļina hraniva, zajedno sa gubitkom putem plinskih emisija. Ovakvi gubici su ġtetni u ekoloġkom ali i u poljoprivrednom i ekonomskom smislu kroz smanjene prinose. U takvim situacijama prisustvo arbuskularnog mikoriznog tipa je biljni evolucijski pokuġaj optimizacije gubitka hraniva.

Cavagnaro i sur. (2015) su u svojem istraźivanju obradili naļine na koje arbuskularne gljive imaju sposobnost smanjiti te gubitke putem poveĺanog biljnog usvajanja hraniva i putem sprijeļavanja njihovih gubitaka nakon kiġom uzrokovanog ispiranja.
Mikorizne gljive se sve viġe prepoznaju kao ključļne vrste koje stvaraju guġĺe slojeve tla i time omoguĺavaju rast i razvoj buduĺih generacija biljaka i źivotinja bez kojih ne bi bilo ekosustava.

Stamets (2005) u svojem dugogodiġnjem radu s mikoriznim gljivama tvrdi da se micelij moźe selekcionirati i koristiti za razgradnju toksiļnog otpada pri ļemu ga razgraĽuje na bezopasne metabolite, te je svoje tvrdnje dokazao upotrebom micelija za ļiġĺenje izljeva nafte. Ovakva ekoloġka korist ne moźe se preuveliļati. Autor takoĽer navodi upotrebu micelija u filtraciji vode te u neutralizaciji ġtetoļina kao ġto su termiti i vatreni mravi.
Nekoliko je naļina na koje su mikorizne gljive korisne i upotrebljive u ekoloġkom kontekstu: kroz mikoġumarstvo, mikosanaciju, kao mikopesticidi te u zaġtiti okoliġa.
Mikoġumarstvo navodi kao upotrebu gljiva u oļuvanju prirodnih ġuma, u oporavku i recikliranju ġumskog otpada te poboljġavanju kvalitete presaĽeog drveĺa. Mikosanacija se odnosi na upotrebu gljiva za razlaganje ili odstranjivanje toksina iz tla a temelji se na sposobnosti gljive da razlaźu razne molekule.

Biljke ovisne o arbuskularnim mikoriznim asocijacijama, poput biljke *Eremanthus icanus,* pokazuju velik potencijal u obnavljanju oslabljenih tala (Pagano, 2012). Na isti naļin gljive obeĺavaju kao razlagaļi teġkih metala iz tla koristeĺi sporokarp za skladiġtene usvojenih teġkih metala, koji se kasnije moźe 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 priđvršćuju 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 lišta opaženo kod tretiranih, nemikoriziranih sadnica je značajno koreliralo 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.

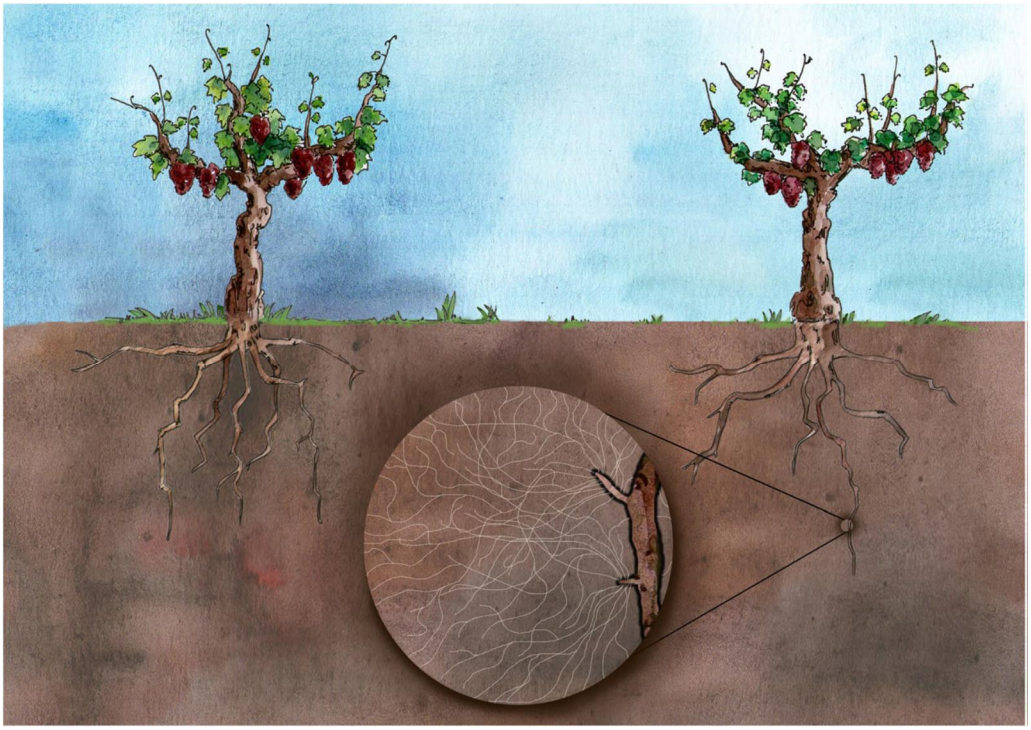
Čak je 90% P iz tla biljci nedostupno, što uslijed filtracijskih reakcija tla, što putem sorpcije organskih i mineralnih čestica. Iz tog razloga većina poljoprivrednika obilno aplicira fosforna gnojiva u usjeve, no P je i dalje biljci dostupan u maloj količini i stvara se začarani krug i dolazi do gomilanja 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 veće 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 i 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 moge se koristiti i ko-inokulacija sa bakterijama promotorima rasta. Takva praksa rezultira povećanom razvoju cvjetova i plodova kod jagode, plodovi dobivaju na veličini, sadrže više koncentracije šećera u odnosu na nemikorizirane jagode te također sadrže veće količine askorbinske i folične kiseline. Mikorizne gljive utječu na kvalitetu usjeva i pokazuju te rezultate čak i pod uvjetima smanjene kemijske gnojidbe. Navedeno potvrđuju Bona i sur. (2014) koji su dokazali da simbioza s arbuskularnom gljivom utječe na biljnu biosintezu hormona te na metabolizam biljke. Učinci arbuskularne simbioze zapaženi su ne samo kod koloniziranog korjenovog sustava već i kod površinskih dijelova biljke, poput lišća, cvijeća i plodova.

Kod voćnih usjeva, kolonizacija arbuskularnim gljivama stimulira rast, pojačava fotosintezu, inducira raniju cvatnju i plodonošenje te poboljšava kvalitetu prinosa
. Rizosferne interakcije pozitivno utječu na kvalitetu tla te se mogu eksploatirati u svrhu povećanja prinosa, redukcije kemijske primjene i razvitka učinkovitih oblika održive 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 plodonoģenje. Arbuskularne gljive su prethodno pokazale da mijenjaju biljnu reproduktivnu fiziologiju, induciraju raniju cvatnju, te osim produģenog perioda cvatnje, takoĽer poveĺavaju broj cvjetnih pupoljaka i plodova.

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

Opĺenito plodovi su zdraviji (radi veĺe koncentracije vitamina), ukusniji (radi veĺe koncentracije ģeĺera) i sadrģe viģe antocijana. Veĺi sadrģaj ģeĺera je takoĽer interesantan u proizvodnji dģemova i sokova ģto poveĺava komercijalnu vrijednost voĺaka zajedno sa poveĺanim prinosom i ļini mikorize interesantnima ne samo kod uzgoja voĺa za uporabu u svjeģem stanju veĺ i za razne preraĽevine. Posebno obzirom da su biljke postigle takve rezultate pod uvjetima reducirane gnojidbe, ģto vodi ekonomskoj, ekoloģkoj 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, duģik i druge elemente. Arbuskularne mikorize poveĺavaju toleranciju na abiotske stresove kao ģto su vodni stres, zaslanjenost tla, kloroza i toksiļnost teģkim metalima. Ģtite od biotskih stresova kao ģto su bolesti korjena te proizvode glikoproteine i guste mreģe hifa koje poveĺavaju stabilnost tla i ģtede hraniva tla, i sve to za 14% od ukupnog budģeta koji je bio potreban za proizvodnju nemikoriziranog groģĽa.

Mikorizne asocijacije su se pokazale uspjeģnima i na terenskim uvjetima ģto 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 vaģnu 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 proširiti 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 stakleničkim 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 εm je imala znaļajno pozitivne uļinke na navedena svojstva kod neinokulirane biljke. Kod micelarne mreġe od 0.45 εm 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 područļja. Provedeno je istraġivanje tokom kojeg se testirao odgovor triju drvenastih biljnih vrsta sa razliļitih geografskih područļja: *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. Ključnim se pokazalo podrijetlo sjemena, no razine kolonizacije korjena (80-90%) nisu previġe varirale ovisno o podrijetlu. U svim slučajevima mikorizna gljiva je pogodovala drveĺu pugem veĺeg usvajanja N, P i K. Naroļito je usvajanje P bilo proporcionalano s ovisnosti o mikorizi. Moġe se zaključiti 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, korišćći i 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.

Veći 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 domaći ina. Time, inokulacija voćnih vrsta gljivom koja tvori arbuskularne mikorize može biti itekako profitabilna te su pritom dostupni komercijalni inokulumi.
Arbuskularna mikoriza može biti uţinkovita u povećanju biljne otpornosti na sušu i stres uzrokovan povećanom koliţinom soli u tlu. Osobito su obećavajuće u biokontroli korjenovih nematoda te u povećanoj kemijskoj kvaliteti povrća za ljudsku upotrebu. Mnoge porodice povrtnih kultura (*Amaryllidaceae, Apiaceae, Asteraceae, Cucurbitaceae, Fabaceae i Solanaceae)* pokazuju visoku ovisnost o mikoriznim asocijacijama (Baum i sur., 2015).

Istraţen je uţinak 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 znaţajno veću 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 tiţe povećanja biljne otpornosti na stres uzrokovan velikim koliţinama soli u tlu, više studija dokazuje korist mikoriza u ovom kontekstu.
Arbuskularne mikorize smanjuju stres uzrokovan zaslanjenošću kod mnogih kultura, primjerice banana, bob, rajţica, maslina, palma i druge (Trouvelot i sur., 2015) putem poboljšanja usvajanja P, N, Zn, Cu i Fe. Poboljšanje koliţine fosfora u biljci je vjerojatno najvaţniji izvor otpora na stres kakav izaziva velika zaslanjenost. Prouţavana 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 uţinak na biljnu otporonost na zaslanjenost tla pokazali su i Oztekin i sur. (2012) koji su istraţili kombinirane uţinke presaĽivanja i mikorizne inokulacije pod uvjetima zaslanjenosti. Pokus je proveden u plasteniku tijekom jeseni i proljeća 2008. i 2009. godine na rajţici.
Polovica biljaka je umoţena u suspenziju koja je sadrţavala endomikorizne arbuskularne gljive (*Glomus spp*.) jedan dan prije presaĽivanja, dok je druga polovica presaĽena bez ikakvog tretmana kao kontrola.

Iako nije bilo statistiļkih razlika u teģini suhe i svjeģe tvari biljnih dijelova, mikorizna inokulacija je poveĺala teģinu svjeģe 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 viģestruko presaĽivanje, ģto je vaģan podatak za rasadniļku proizvodnju.

Koc (2015) je takoĽer doģao 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 poboljģava toleranciju na stres kod groģĽa, zajedno sa poboljģanjem u biljnom usvajanju vode.

Latef i Chaoxing (2011) su pak istraģili mehanizme smanjivanja stresa uzrokovanog zaslanjenoģĺu 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 povrģinu, sadrģaj klorofila, teģinu svjeģe tvari u voĺu i prinos. Koncentracije P i K su bile viģe kod mikoriziranih, u usporedbi sa nemikoriziranim biljkama uzgajanim pod slanim uvjetima i uvjetima bez zaslanjenosti. Koncentracije Na su bile niģe kod mikoriziranih nego kod nemikoriziranih gljiva te se pokazalo da mikorizne gljive ģtite biljke protiv zaslanjenosti na naļin da smanjuju oksidativni stres kakav izaziva velika koncentracija soli.

Za voĺarsku je proizvodnju osobito vaģno 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, ģto moģe biti povezano s osmotskim uļinkom soli u tlu, poveĺanju natrija i smanjenju razine duģika u liģĺu. Pokazalo se da sol reducira mikoriznu kolonizaciju korjena, ali ne utjeļe na gustoĺu spora, ģto je korisna informacija kod uzgoja ove voĺne vrste.

Uzgoj biljaka iz presadnica uzrokuje određeni stres za biljku tokom višestrukog presađivanja. Kod većine višegodišnjih biljki iz umjerenog pojasa, presađivanje uglavnom rezultira slabijim početnim rastom što sprječava 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 sličnih praksi, postoje utemeljene naznake da bi mikorizacija mogla biti korisna tehnika u poboljšanju biljnog zdravlja tokom ove osjetljive faze rasta.
Forge i sur. (2015) tvrde da uspostava mikoriznih asocijacija vodi ka poboljšanju učinkovitosti i pouzdanosti uzgoja voća iz sadnica i da smanjuje stres koji se pritom vrši na biljku.

U svrhu utvrđivanja potencijalno povoljnog učinka mikorize na biljku tokom ovog procesa, Castillo i sur. (2009) proveli su ispitivanje na čili papričici (*Capsicum annuum L.*) budući da ta biljka zahtijeva uzgoj iz presadnica. Cilj studije je usporediti učinkovitosti dviju arbuskularnih gljiva sa komercijalnim (*Glomus intraradices*) i lokalnim inokulumom (*Glomus claroideum*) te sa kontrolom bez inokulacije.
Rezultati istraživanja pokazali su da je kod biljaka inokuliranih sa lokalnom mikoriznom gljivom bilo više folijarne mase, berba je počela 49 dana ranije i težina svježe tvari je bila čak 177 % viša u usporedbi s kontrolom. Kolonizacija na korjenu je bila dosta niska, što pokazuje značajnu razliku u usporedbi sa komercijalnim inokulumom, dok je istovremeno došlo do velike proizvodnje spora u supstratu. Iz toga se vidi da inokulacija sa nativnom gljivom smanjuje stres presađivanja i pritom ubrzava proces sazrijevanja biljaka što rezultira sa višim prinosom i većom kvalitetom prinosa.

Cecatto i sur. (2016) tvrde da inokulacija sa arbuskularnom gljivom pri presađivanju sadnica jagoda utječe na sadržaj antocijana i fenola - plodovi pokazuju vrlo visok sadržaj i jednog i drugog. Također, dolazi do smanjenja kisleosti u plodovima tokom sezone rasta i povećanja njihove čvrstoće tokom ranih stadija proizvodnje. Ovo je vrlo značajno otkriće kod voćnih vrsta kao što je jagoda, za koju je tvrdoća vrlo značajna kod transporta plodova.

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

biljke imale viġe koncentracije duġika i fosfora, 8%-tnu stomatalnu provodnost i veĺ i ukupni prinos.
Studije utvrĽivanja korisnosti mikoriza kod uvjeta suġe su takoĽer proveli Calvo-Polanco i sur. (2016) tokom kojih su pokuġali otkriti na koji naļin arbuskularne gljive koje potjeļu sa razliļitih tala utjeļu na rast i vodni potencijal stabala maslina. Masline su inokulirane nativnim populacijama prikupljenih sa dvaju razliļitih staniġta, semi-aridnih i humidnih regija, te zatim podvrgnute stresu suġe.

UtvrĽeno je da biljke rastu bolje sa gljivama koje potjeļu iz humidnih područļja ġto je korisno znati prilikom izbora najidealnijeg inokuluma za pojedinu proizvodnju. Dalje, pod ovim uvjetima je naĽena najveĺa raznolikost arbuskularnih gljiva.
Obje mikorizne inokulacije znaļajno poveĺavaju visinu biljaka, promjer stabljike, broj lateralnih mladica i liġĺa, ukupne fenole, klorofile i karotenoide ġto potvrĽuju Seifi i sur. (2014).
Ove i sliļne studije pokazuju ne samo da se mikorize mogu upotrebljavati kao oruĽe u borbi protiv suġe, ali da treba obratiti pozornost na sojeve gljiva te na staniġta iz kojih potjeļu buduĺi da su i to birni faktori za postizanje maksimalnih rezultata kod mikoriziranja.

Zou i sur. (2016) su ispitali svojstva glomalina, posebnog glikoproteina kojeg izluļuju hife i spore arbuskularnih gljiva, a koji posjeduje neke raznolike karakteristike od kojih su najizraġajnije hidrofobna priroda i stabilnost na visokim temperaturama. Glomalin uslijed procesa degradacije hifa oblaġe organsku tvar i ļestice tla te time formira zaġitni povrġinski sloj koji sluġi protiv gubitka vode i hraniva iz agregata tla. Na taj naļin glomalin utjeļe na sposobnost zadrġavanja vode od strane tla i biljke. TakoĽer predstavlja svojevrsno ljepilo, koje stabilizira agregate tla te frakcije organske tvari u viġegodiġnjim voĺnjacima. Ovi podaci pokazuju da se glomalin treba uzeti u obzir kao potencijalnoi tretman za tlo kod viġegodiġnjih voĺaka.

7.7.Otpornost na bolesti i štetočine

Osim na terenu, vaġnost mikoriznih asocijacijama dolazi do izraġaja i kod uzgoja bilja u rasadnicima, radi svojih brojnih pozitivnih uļinaka na biljni rast te na biozaġitu. S time u vidu Aleandri i sur. (2015) su pokuġali odrediti uļinak mikorizne inokulacije sa gljivom *Rhizophagus irregularis* u rasadniļkom mediju na korjenu dinje zaraġene 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 mogućе 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 ï *Claroideoglomus tunicatum, Diversipora versiformis, Funneliformis mosseae* i *Rhizophagus intraradices* u simbiozi sa korjenovim sustavom naranče (*Poncirus trifoliata*) uzgajane u pijesku.

Inokulirane sadnice pokazale su značajno 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

ljetvrtog reda. Pronađene su značajno veće 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 dlačica (Wu i sur., 2016).
Arbuskularne gljive dakle mogu mijenjati profil korjenovih dlačica kod naranče kroz modulaciju fiziological kih aktivnosti. *F. mossaceae*, pokazala je najbolje rezultate te bi mogla predstavljati učinkovitu gljivu za povećanje prinosa voća 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 znači da se mikroorganizmi i tlo mogu svojom pH vrijednosti međusobno odbijati ili privlačiti.

Taj je podatak značajan za voćne vrste koje imaju zahtjeve za kiselošću tla, poput borovnice. Waters i sur. (2008) navode da arbuskularna mikoriza na borovnici pokazuje rezultate u povećanom usvajanju gnojiva čak i kod smanjene gnojidbe. Takvo smanjenje u količini unesenog gnojiva također 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 voćarske 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 utječu li, i ako utječu, na koji način, različiti 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 izvući i najveći mogući potencijal iz uspostavljene mikorize, potrebno je proučiti na koji to način okolišni uvjeti, izbor kultivara, radovi u nasadu i slične prakse utječu na prisustvo i učinkovitost 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 lišća 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 žimbenika u ekosustavu. Derelle i sur. (2015) navode da gustoća biljaka nema utjecaja 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 najviše 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 ġeĺere. Kao odgovor na to mikoriza je kanalizirala ġeĺere, koji su praĺeni putem radioaktivnog ugljika, iz zone korjena *Betule papyrifere* ka *P. menziesii*. Ļak je 9 % ugljikohidrata preneseno iz *B. papyrifere*. Ovo dokazuje da je koliļina translociranog ġeĺera bila direktno proporcionalna koliļini sjene, ġto znaļi da su mikorize sposobne odrģavati viġe razliļitih vrsta na naļin da translociraju hraniva iz jedne u drugu i time doprinose ravnoteġi u ġumskom ekosustavu.

Obzirom na brojna istraġivanja koja dokazuju uļinak razliļitih agrotehniļkih zahvata, poput oranja, malļiranja, fumigacije, gnojidbe, navodnjavanja i dr. na uspostavu i uļinkovitost mikoriznih asocijacija na tlu, te samim time i na njihovu dobrobit za biljku i nasad, jasno je da se naļin primjene ovih radnji treba barem djelomiļno prilagoditi mikoriznim gljivama.

8. Primjena molekularnih metoda u identifikaciji mikoriznih gljiva

8.1. Identifikacija mikoriznih gljiva

Konvencionalne metode identifikacije gljiva su se često oslanjale na identifikaciju simptoma bolesti, izolacije i laboratorijske identifikacije po morfološkim karakteristikama i biokemijskim testovima, prema otpornosti na antibiotike, serološka svojstva, analizom staničnih proteina i osjetljivosti na bakteriofage. Iako su ove metode i dalje temeljne, problem sa tradicionalnim metodama identifikacije je to što nisu dovoljno precizne u određivanju pojedinog soja, zahtijevaju veće količine vremena i ne mogu se primjeniti na većem broju uzoraka (Blažinkov, 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 nužno kombinirati novu tehnologiju sa konvencionalnim metodama kako bi se potpuno razumijele interakcije u okolišu.
Na raspolaganju je i kloniranje, koje služi za dobivanje više kopija gena ili nekog drugog dijelića 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, međutim treba ih obraditi što je brže moguće kako bi se spriječila degradacija i smanjila kontaminacija drugim gljivama. Za dugoročno skladištenje uzorci se trebaju čuvati na -20°C.
Učinkovita izolacija DNK je ključna za identifikaciju, a sami DNK protokoli ovise o izvoru uzoraka te kvaliteti i dužini DNK segmenta koji se analizira. Polifenoli, neke kiseline iz tla i tanini mogli bi inhibitorno djelovati na PCR reakciju pa uzorke treba pročistiti od navedenih supstanci. Osim DNK, RNA se također može izolirati i to u većim količinama nego DNK budući da se u stanicama nalazi u većoj količini. RNA pak zahtijeva posebne procedure

ekstrakcije i ne moće se dugoročno skladištiti jer je puno podložnija degradaciji i kontaminaciji.

Za PCR amplifikaciju ciljanog DNK fragmenta ključna je kvaliteta i čistoća DNK. DNK se može kvantificirati putem elektroforeze ili putem spektrofotometra kako bi se procijenila koncentracija izolirane DNK. Prva procedura ima prednost u tome što omogućava procjenu kontaminacije sa RNA i procjenu kvalitete DNK, međutim DNK u vrlo malim količinama možda neće biti vidljiva na gelu pa će biti potrebna amplifikacija PCR metodom. DNK se može prikupiti direktno, lizranjem stanica u uzorku tla ili indirektno, iz uzorka tla prije liziranja pri čemu direktna metoda prikuplja više materijala i uzorak je manje kontaminiran (Suz i sur., 2008).

8.3. PCR metode

ñPCRò je skraćeni naziv za ñPolymerase Chain Reactionò (lančana reakcija polimerazom), odnosno u širem kontekstu za tehniku koja se koristi u molekularnoj biologiji, a odnosi se na enzimatsku sintezu specifičnih sekvenci DNA (Blažinkov, 2006), pri čemu je moguće dobiti tisuće pa čak i milijune kopija određene DNK sekvence.

PCR metode zasnivaju se na amplifikaciji DNK sekvence, pri čemu se koriste odabrane početnice, odnosno kratki odsječci DNK, na koje se razdvojeni lanci genomske DNK vežu te se na taj način dobivaju genomski otisci na temelju kojih se vrši diferencijacija i identifikacija sojeva (Vasilj, 2013). Sama metoda odvija se u tri faze: faza denaturacije u kojoj dolazi do razdvajanja lanca DNK, faza sparivanja početnice 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 sljedećim PCR ciklusima (Pohajda, 2011).
Izolacija DNK zajedno sa PCR amplifikacijom značajno poboljšava detekciju i identifikaciju mikroorganizama. Kod identifikacije ektomikoriznih gljiva primjerice, rRNA geni prisutni i u jezgri i u mitohondrijima su najčešće ciljani dio za PCR amplifikaciju.

Za DNK replikaciju je nužna DNK polimeraza, odnosno enzim koji katalizira proces amplifikacije. Koriste se početnice specifične za gljive, ITSIF i univerzalna reverzna početnica ITS4, naročito 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 i 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 oġteĺene ili prekinute.

Prikupljene uzorke moġemo skladiġtiti do dva tjedna u plastiļnim vreĺama na 4°C.
Uzorke treba njeġno isprati kako bi se uklonilo tlo, no pritom treba paziti da se ektomikoriza ne oġteti te se pregledava gustoĺa mikorize i izraġava kao broj ġivih 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 uspješno kultivirati bez biljke domaĺina, bilo je mnogo pokuġaja 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 pomiješati 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 ġest mjeseci, no ova metoda uglavnom rezultira miješanim inokulumom koji moġe posluġiti kao baza za daljnju izolaciju.
Dalje, mogu se uzeti presadnice sa terena na kojemu je utvrĽena arbuskularna mikoriza ï takvim presadnicama se paġljivo pere korjenje kako bi se uklonio viġak zemlje i eksternog miceija te ih se sadi u prikladni sterilni supstrat. Ova metoda ļesto rezultira miješanom kulturom mikoriza buduĺi da biljke domaĺini mogu uspostaviti mikorizu sa simbionata, no nekada se dogodi da se razvije samo jedan soj.

Arbuskularne gljive moġemo razmnoġavati i putem malih djeliĺa korjenja koje stavljamo u kontakt sa nemikoriziranom biljkom domaĺinom u sterilnom supstratu. Ukoliko se koriste dovoljno sitni djeliĺi korjena, moġe se dobiti jednovrsna kultura.
Najpreciznija metoda, meĽutim, je sortiranje spora pod mikroskopom te koriġtenje 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 moġe 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 skladititi 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 i 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 nemogća 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 oštećenja 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. Blaġinkov, M., (2006.). Genetiļ ka raznolikost prirodnih populacija *Rhizobium leguminosarum bv.viciae* u tlima ekologġkog podruļ ja sjeverozapadne Hrvatske. Doktorska disertacija, Agronomski fakultet, Sveuļ iliġte 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. Druġli Ĺ Orli Ĺ 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, Sveuļilġte 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 Sveuļilġna 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, Sveuļiliġte 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 óDogridgeô 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 tehnoloģki fakultet, Sveuļiliģte u Mostaru
55. Vukadin, B., (2014.), Znaļaj i primjena mikoriznih gljiva u odrģivoj poljoprivredi i ģumarstvu. Diplomski rad, Agronomski i prehrambeno-tehnoloģki fakultet, Sveuļiliģte 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: 293ج297 < http://www.fspublishers.org>

Internetske stranice:

1. https://en.wikipedia.org/wiki/Polymerase_chain_reaction (Pristupljeno: 7. Oǵujka 2017.)
2. https://en.wikipedia.org/wiki/Primer_(molecular_biology (Pristupljeno: 7 oǵujka 2017.)
3. https://en.wikipedia.org/wiki/Restriction_fragment_length_polymorphism (pristupljeno (9. Oǵujka 2017.)
4. https://www.sciencelearn.org.nz/resources/2031-DNK-cloning (Pristupljeno: 10. Oǵujka 2017.)
5. http://mycorrhizae.org.in (Pristupljeno: 10. Oǵujka 2017.)
6. https://hr.wikipedia.org/wiki/Gljive (Pristupljeno: 10. Oǵujka 2017.)
7. https://hr.wikipedia.org/wiki/Sklerocij (Pristupljeno: 15. Oǵujka 2017.)
8. http://bioteka.hr/modules/lexikon/entry.php?entryID=133 (Pristupljeno: 15. Oǵujka 2017.)
9. http://archive.bio.ed.ac.uk/jdeacon/microbes/biotroph.htm (Pristupljeno: 15. Oǵujka 2017.)
10. https://hr.wikipedia.org/wiki/Parazitizam/ (Pristupljeno: 5. Oǵujka 2017.)
11. http://www.agroklub.com/eko-proizvodnja/mikoriza-nova-tehnologija-u-poljoprivredi/21940/ (Pristupljeno: 5. Oǵujka 2017.)
12. https://bs.wikipedia.org/wiki/Mikoriza#Tipovi_mikorize (Pristupljeno: 5. Oǵujka 2017.)
13. http://www.davidmoore.org.uk/assets/mostly_mycology/diane_howarth/arbutoid.htm (Pristupljeno: 8. Oǵujka 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 Cimpriĺ roľena je 29. Oǵujka 1992. Godine u Zagrebu. Osnovnu i srednju ġkolu pohaľala je u Zagrebu, gdje je 2010. godine maturirala u Upravnoj i birotehniļ koj ġkoli, smijer poslovni tajnik. Tokom srednje ġkole zavrġila je teļ aj fotografije u foto klubu Zagreb. Nakon mature upisuje preddiplomski studij Hortikulture na Agronomskom fakultetu Sveuļ iliġta u Zagrebu, a zatim 2013. godine diplomski studij Voĺ arstva takoľer na Agronomskom fakultetu sveuļ iliġta u Zagrebu.

Za vrijeme studija studentica je stjecala radno isustvo u Tiskari Zagreb d.o.o., 2011. god., Veļ ernjem listu, 2012. god., te od 2014. godine do danas radi u Business sales odjelu u Tele2. U jesen 2015. godine upisuje Callegari ġkolu mode i dizajna, smijer vizaǵist, te istu zavrġava u jesen 2016. godine te od tad radi kao asistent ġminke na brojnim filmovima i televizijskim reklamama. U slobodno vrijeme studentica se bavi borilaļ kim vjeġinama, plesom te rezbarenjem drveta.