



Συμβολή των **Μυκορριζών** στην **Αειφορικότητα** Οριακών Μεσογειακών Οικοσυστημάτων - **Ανάπτυξη Μυκορριζικών Εμβολίων**

Δρ Νεκτάριος Καβρουλάκης, Γεωπόνος
Δρ Γεώργιος Ψαρράς, Αναπληρωτής Ερευνητής
Ινστιτούτο Ελιάς, Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου

Οι μυκορριζες είναι μύκητες του εδάφους που έχουν την ικανότητα να αναπτύσσουν συμβιωτική και αμοιβαία ωφέλιμη σχέση με τις ρίζες των περισσότερων φυτών. Κατά τη συμβίωση το φυτό παρέχει υδατάνθρακες στο μύκητα και αυτός, μέσω του εκτεταμένου εδαφικού μυκηλίου, παρέχει στο φυτό θρεπτικά στοιχεία και ιδιαίτερα φώσφορο. Σε φυσικά οικοσυστήματα οι μυκορριζικοί μύκητες καλύπτουν μέχρι και το 80% των απαιτήσεων των φυτών σε φωσφόρο. Σε ορισμένες περιπτώσεις η προσθήκη ή η ύπαρξη σημαντικών ποσοτήτων διαθέσιμου φωσφόρου, μειώνει τον αποικισμό των ριζών από μυκορριζες. Η συμβιωτική αυτή σχέση μπορεί να προσφέρει στα φυτά προστασία από παθογόνα ή βαρέα μέταλλα και να τα βοηθά σε καταστάσεις αυξημένης αλατότητας και ξηρασίας. Οι μυκορριζες επίσης έχουν σημαντική θετική επίδραση και στη δομή του εδάφους, αφού θεωρείται ότι αυξάνουν τη σταθερότητα των εδαφικών συσσωματωμάτων, κυρίως μέσω της παραγωγής μιας πρωτεΐνης, της γλομαλίνης, η οποία αποτελεί σημαντικό ποσοστό της οργανικής ουσίας του εδάφους.

Υπάρχουν διάφορες κατηγορίες μυκορριζών, εκ των οποίων οι Δενδρόμορφοι Μυκορριζικοί Μύκητες (ΔΜΜ) συμβιώνουν με τα περισσότερα φυτά. Οι ενδομυκορριζικοί μύκητες του φύλου *Glomeromycota* είναι υποχρεωτικά συμβιωτικοί μικροοργανισμοί και κατά συνέπεια δεν μπορούν να καλλιεργηθούν στο εργαστήριο. Αν και οι μυκορριζες δεν έχουν εξειδίκευση στον ξενιστή, διαφέρουν ως προς την ικανότητά τους στον αποικισμό και στην προαγωγή της ανάπτυξης των διαφόρων φυτικών ειδών. Το γεγονός αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα, για παράδειγμα, μια μυκορριζα να αυξάνει τη βιομάζα του ξενιστή έως και 800 % παραπάνω από μια άλλη. Οι μυκορριζες διαφέρουν μεταξύ τους και όσον αφορά στις απαιτήσεις τους

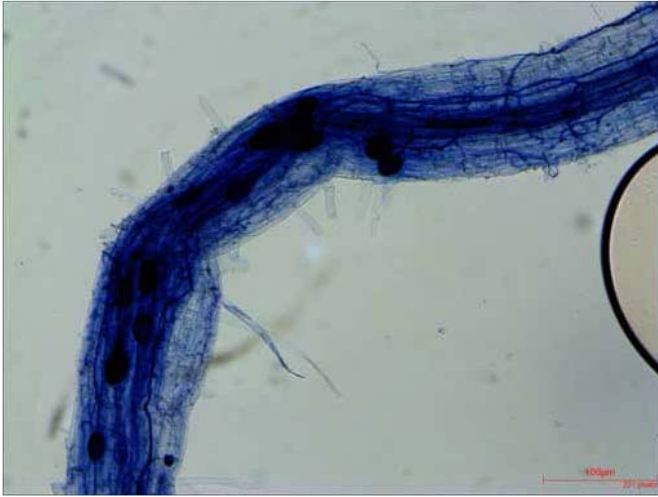
στο εδαφικό pH προκειμένου να μεγιστοποιήσουν τη θετική τους επίδραση στην ανάπτυξη του φυτού που τις φιλοξενεί. Η *Glomus intraradices*, μια μυκορριζα η οποία διατίθεται προς χρήση και σε εμπορικά σκευάσματα, είναι περισσότερο αποτελεσματική σε εδάφη με ουδέτερο pH. Άλλα είδη, όπως το *Gigaspora margarita* και *Scutelospora calospora*, προτιμούν όξινα pH.

Συνοψίζοντας, το μέγιστο της ωφέλειας για το φυτό επιτυγχάνεται όταν υπάρχει κατάλληλος συνδυασμός ξενιστή/μυκορριζας (ή μυκορριζών) και συγκεκριμένες εδαφοκλιματικές συνθήκες.

Η παρουσία και ο ρόλος των μυκορριζών σε φυσικά και γεωργικά οικοσυστήματα

Ένα φυτικό είδος μπορεί να κυριαρχήσει σε μια φυτοκοινωνία, εάν η μυκορριζική συμβίωση που αναπτύσσει είναι περισσότερο αποδοτική από αυτή των άλλων φυτών. Επίσης λιγότερο ανταγωνιστικά φυτά μπορεί να καταφέρνουν να επιβιώνουν αποκλειστικά και μόνο λόγω κάποιας συμβίωσης που αναπτύσσουν. Σε φυσικά δηλαδή οικοσυστήματα η βιοποικιλότητα των φυτών καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από τις μυκορριζες. Δύο φυτικά είδη μπορεί να αποικίζονται σε διαφορετικό βαθμό από τους ίδιους μύκητες ή να έχουν εντελώς διαφορετικές μυκορριζικές κοινότητες. Το σύνολο αυτών των αλληλεπιδράσεων που υφίστανται σε μια φυτοκοινωνία σχετίζεται, όχι μόνο με τη σύσταση και τη σταθερότητά της, αλλά και την κατεύθυνση που αυτή θα ακολουθήσει μετά από μια διαταραχή (π.χ. πυρκαγιά). Στα αμμοθιτικά οικοσυστήματα οι ΔΜΜ θεωρείται ότι παρέχουν προστασία στα φυτά που φύονται σε αυτά έναντι των ακραίων συνθηκών αλατότητας και ξηρασίας. Παρόλα αυτά, μέχρι σήμερα ελάχιστα είναι γνωστά για την ποικιλότητα των ΔΜΜ σε φυτά που ενδημούν σε αυτά τα ακραία οικοσυστήματα.

Σε αειφορικά γεωργικά οικοσυστήματα, όπως αυτά της βιολογικής γεωργίας, έχει παρατηρηθεί αυξημένη μυκορριζι-



Κύστιδια και υφές μυκορριζών σε ρίζα *Plantago lanceolata*. Το φυτό αυτό είναι ξενιστής ευρέως φάσματος και χρησιμοποιήθηκε για την αναπαραγωγή του μολυσματικού υλικού προκειμένου στη συνέχεια να αξιολογηθούν τα μυκορριζικά εμβόλια σε φυτά γεωργικής σημασίας.

κή βιοποικιλότητα και δραστηριότητα. Αντίθετα, μονοκαλλιέργειες και γενικά τα συμβατικά καλλιεργούμενα εδάφη, που δέχονται μεγάλες εισροές φυτοφάρμακων και λιπασμάτων, θεωρούνται φτωχά όσον αφορά τους πληθυσμούς και την ποικιλότητα μυκορριζικών μυκήτων. Για την Ελλάδα δεν υπάρχουν έως σήμερα σημαντικά δεδομένα, τόσο για τα εδάφη που καλλιεργούνται με αειφορικό, όσο και με συμβατικό τρόπο. Στη χώρα μας ιδιαίτερο ενδιαφέρον για μελέτη της μυκορριζικής κοινότητας παρουσιάζουν παλιοί ελαιώνες που επιβιώνουν σε οριακής γονιμότητας εδάφη με ελάχιστες ή καθόλου εισροές για πολλές δεκαετίες, μιας και η βιολογική καλλιέργεια άλλων ειδών είναι συνήθως μια σχετικά πρόσφατη υπόθεση.

Μυκορριζικά εμβόλια

Στην αγορά (και της Ελλάδας) κυκλοφορούν ειδικά σκευάσματα που αποσκοπούν στην ελεγχόμενη εισαγωγή μυκορριζών, κυρίως σε καλλιέργειες, αλλά και σε αποκαταστάσεις εδαφών και φυσικών οικοσυστημάτων που έχουν υποστεί διαφόρων ειδών διαταραχές. Τέτοια προϊόντα, παρόλο που καλύπτουν ευρύ φάσμα περιπτώσεων, έχουν διαφορετική απόδοση ανάλογα με τους ξενιστές και τα υποστρώματα καλλιέργειας των φυτών. Μειωμένη αποτελεσματικότητα μπορεί να οφείλεται στην ποιότητα του σκευάσματος (βιωσιμότητα και συγκέντρωση σπορίων, αλλά και στη συνδυαστικότητα του με το φυτικό είδος (ή ποικιλία) και το υπόστρωμα καλλιέργειας. Προκειμένου να μεγιστοποιηθούν τα οφέλη από τη χρήση των μυκορριζών, η σύγχρονη βιοτεχνολογική έρευνα δίνει έμφαση στην απομόνωση και χρήση γηγενών στελεχών προσαρμοσμένων στις τοπικές καλλιέργειες και εδαφοκλιματικές συνθήκες. Σημαντικός είναι επίσης ο προσδιορισμός των βέλτιστων συνδυασμών μυκορριζών, φυτών-ξενιστών και υποστρωμάτων, έτσι ώστε να επιτευχθεί ο στόχος που μπορεί να είναι η προαγωγή της ανάπτυξης και θρέψης των φυτών, η αντοχή σε αλατότητα και ξηρασία, η προστασία από φυτοπαθογόνα, η ανθεκτικότητα σε βαρέα μέταλλα, η βελτίωση της δομής του εδάφους και η μείωση της διάβρωσης. Η τεχνολογία χρήσης των μυκορριζών μπορεί, εκτός από την απευθείας εφαρμογή στο έδαφος σχετικών σκευασμάτων, να περιλαμβάνει και άλλες στρατηγικές, όπως η μεταφορά χώματος από υγιή σε διαταραγμένα οικοσυστήματα ή και φύτευση φυτών ήδη εμβολιασμένων με μυκορριζές.

Το έργο «Συμβολή των Μυκορριζών στην Αειφορικότητα Οριακών Μεσογειακών Οικοσυστημάτων – Ανάπτυξη Μυκορριζικών Εμβολίων» εγκρίθηκε και υλοποιήθηκε στο πλαίσιο του

Ερευνητικού Χρηματοδοτούμενου Έργου: «Θαλής. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης» μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου. Συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ).

Συνεργάστηκαν συνολικά 25 επιστήμονες από πανεπιστήμια και ερευνητικά ιδρύματα της Ελλάδας, της Πολωνίας και του Καναδά. Από την Ελλάδα συμμετείχαν: (1) το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (επικεφαλής εταίρος του προγράμματος με επιστημονικό υπεύθυνο τον Αν. Καθ. Κωνσταντίνο Οικαλιώτη), (2) το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, (3) το Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης και (4) το Ινστιτούτο Ελιάς, Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου στα Χανιά (ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ). Επιπλέον σημαντική συνεισφορά είχαν οι μετακαλούμενοι ερευνητές Dr J. Klironomos και Dr M. Hard (University of British Columbia/Canada), καθώς και ο Dr J. Blaskowski (West Pomeranian University of Technology/Poland).

Σκοπός του έργου ήταν η μελέτη της βιοποικιλότητας της φυλογένειας και της λειτουργικότητας (του ρόλου) των μυκορριζών σε επιλεγμένα κομβικής σημασίας φυτά αμμοθινών και ημι-άνυδρων διαβρωμένων εδαφικών οικοσυστημάτων, που κινδυνεύουν από υποβάθμιση, ερημοποίηση, αλλά και εισβολή μη γηγενών φυτικών ειδών και η ανάδειξη/αξιοποίηση επιλεγμένων γηγενών στελεχών. Σε δεύτερο στάδιο και με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν, αναπτύχθηκαν και εφαρμόστηκαν εξειδικευμένα εμβόλια δενδρόμορφων μυκορριζικών μυκήτων (ΔΜΜ), με απώτερο σκοπό την αύξηση της αντοχής και της παραγωγικότητας καλλιεργούμενων φυτών σε συνθήκες οσμωτικής καταπόνησης (αλατότητα/ξηρασία).

Οι ειδικότεροι στόχοι του έργου ήταν: 1) Να μελετηθούν από άποψη βιοποικιλότητας και φυλογένειας μυκορριζών συγκεκριμένα οριακά οικοσυστήματα, 2) να διερευνηθεί αν οι μυκορριζές που αποικίζουν τις ρίζες διαφοροποιούνται σε επίπεδο βιοποικιλότητας και φυλογένειας μεταξύ φυτών, αλλά και μεταξύ διαφορετικών περιοχών δειγματοληψίας, 3) να διερευνηθεί ο λειτουργικός ρόλος των γηγενών μυκορριζών υπό συνθήκες οσμωτικής καταπόνησης (υδατική καταπόνηση/αυξημένη αλατότητα) και 4) να παραχθούν επιλεγμένα μυκορριζικά εμβόλια.

Ποικιλότητα και φυλογένεια των μυκορριζικών κοινοτήτων στα αμμοθινικά οικοσυστήματα

Στο πλαίσιο του έργου έγινε ολοκληρωμένη ανάλυση των οικοσυστημάτων με σχεδιασμένες δειγματοληψίες από τη ριζοσφαιρα των επιλεγμένων φυτών σε διαφορετικές εποχές. Την κεντρική ευθύνη για το τμήμα αυτό της εργασίας είχε το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας). Τα αμμοθινικά οικοσυστήματα που μελετήθηκαν βρίσκονται σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας, όπως ο Ρωμανός (Πελοπόννησος), το Ελαφονήσι (Κρήτη), η Κέρκυρα, η Άνδρος, η Καβάλα, η Ζαχάρω και η Κεφαλονιά. Στα ριζοσφαιρικά εδάφη πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σχετιζόμενες με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους και την παρουσία των μυκορριζικών μυκήτων. Στις ρίζες των φυτών έγινε ημι-ποσοτικός και ποιοτικός προσδιορισμός αποικισμού από ενδομυκορριζικούς μύκητες.

Επιπλέον, μελετήθηκε η ποικιλότητα και φυλογένεια των μυκορριζικών κοινοτήτων. Συγκεκριμένα, έγινε μοριακή ταξινόμηση και αναγνώριση με κλασικές μεθόδους των ενδομυκορριζικών μυκήτων από σπόρια και από αποικισμένα ριζικά δείγματα των φυτών. Προσδιορίστηκε επίσης η παραλλακτικότητα στη σύνθεση των μυκορριζικών κοινοτήτων σε χωρικό και εποχιακό επίπεδο. Σε επιλεγμένα δείγματα δυο κοινών αμμο-



Επίδραση των μυκόρριζων στην ανάπτυξη δενδρυλλίων ελιάς. Το κάθε φυτό (εκτός του μάρτυρα) έχει εμβολιασθεί με μυκόρριζικό εμβόλιο προερχόμενο από διαφορετική περιοχή της Ελλάδας.

θινικών φυτών, το *Medicago marina* και *Eryngium maritimum*, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της ποικιλότητας των ΔΜΜ με αλληλούχιση σε σύστημα MiSeq-illumina, χρησιμοποιώντας κατάλληλα ζεύγη DNA εκκινητών. Σκοπός ήταν να διερευνηθεί αν το είδος του φυτού ή η περιοχή από την οποία συλλέχθηκε καθορίζουν τη δομή της μυκόρριζικής του κοινότητας.

Ανάπτυξη και αξιολόγηση επιλεγμένων μυκόρριζικών εμβολίων

Έπειτα από τη συλλογή των ριζοσφαιρικών δειγμάτων, μελετήθηκε υπό ελεγχόμενες συνθήκες η επίδραση επιλεγμένων μικτών εμβολίων (μιγμάτων διαφορετικών μυκόρριζών) σε φυτά. Αφού έγινε αναπαραγωγή του μολυσματικού υλικού (μυκόρριζες) από σπόρια ή/και εδαφικά εμβόλια σε φυτά ξενιστές (*Plantago lanceolata*, *Zea mays* ή *Sorghum bicolor*), έγινε εφαρμογή τους σε γεωργικού ενδιαφέροντος φυτικά είδη μέσα σε φυτοδοχεία και σε συνθήκες αυξημένης ωσμωτικής καταπόνησης (αλατότητα). Ειδικότερα, ριζοβολημένα μοσχεύματα ελιάς, αφού εμβολιάστηκαν με τα εμβόλια ενδομυκόρριζικών μυκήτων, αναπτύχθηκαν σε υδροπονικό σύστημα με αδρανές υπόστρωμα ανάπτυξης. Στα φυτά παρέχονταν τροποποιημένο θρεπτικό διάλυμα Hoagland με μειωμένη συγκέντρωση φωσφόρου, καθώς και με ή χωρίς NaCl, ως παράγοντα ωσμωτικής καταπόνησης. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν μη εμβολιασμένα φυτά αναπτυσσόμενα κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φυτών πραγματοποιήθηκε σειρά μετρήσεων που σχετιζόνταν με την ανάπτυξη, με φυσιολογικούς και βιοχημικούς δείκτες και τον αποικισμό των ριζών.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο βαθμός αποικισμού των ριζών των φυτών ελιάς από μυκόρριζες διέφερε σημαντικά μεταξύ των μικτών εμβολίων που χρησιμοποιήθηκαν. Παρόλα αυτά, η εφαρμογή των μυκόρριζών προήγαγε την ανάπτυξη των ριζών των μοσχευμάτων ελιάς, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις μυκόρριζικών εμβολίων που δοκιμάστηκαν. Η θετική αυτή επίδραση ήταν φανερή και στο τέλος της πειραματικής περιόδου (10 μήνες μετά τον εμβολιασμό). Όλα τα μυκόρριζικά εμβόλια αύξησαν τον ρυθμό φωτοσύνθεσης των φυτών ελιάς, συγκρινόμενα με τα μη εμβολιασμένα φυτά, σε κανονικές και ήπιας οσμωτικής καταπόνησης συνθήκες (έως 50 mM NaCl στο θρεπτικό διάλυμα). Σε συνθήκες αυξημένης ωσμωτικής καταπόνησης (100 mM NaCl) η επίδραση στην ανάπτυξη,

στη φωτοσυνθετική δραστηριότητα και τη θρέψη των φυτών διαφέρει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων μυκόρριζικών εμβολίων και ποικίλλει από θετική έως αρνητική. Σε κάποιες περιπτώσεις εμβολίων η μυκόρριζική συμβίωση αναστέλλει την ανάπτυξη των φυτών, επιδρώντας ακόμα και στη φωτοσύνθεση. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι οι μυκόρριζες ενδέχεται να δρουν παρασιτικά κάτω από ορισμένες συνθήκες. Η διαφοροποίηση της επίδρασης των διαφόρων εμβολίων στην ανάπτυξη των φυτών ανάλογα με τα επίπεδα αλατότητας, εισάγει άλλον ένα παράγοντα στη μελέτη των μυκόρριζών ο οποίος είναι η ηλεκτρική αγωγιμότητα του υποστρώματος ανάπτυξης των φυτών. Η συμπεριφορά δηλαδή των μυκόρριζών (ή των συνδυασμών τους) πιθανότατα τροποποιείται στα διάφορα επίπεδα αλατότητας του εδάφους. Οι διαφοροποιήσεις αυτές στην ανάπτυξη και το ρυθμό φωτοσύνθεσης είχαν ανάλογο αντίκρυσμα και στη θρεπτική κατάσταση των φυτών. Σε γενικές γραμμές τα φυτά που ήταν εμβολιασμένα με μυκόρριζες είχαν αυξημένη ικανότητα απορρόφησης θρεπτικών στοιχείων και ιδίως του φωσφόρου από το υπόστρωμα. Με βάση τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν, αξιολογήθηκαν τα μυκόρριζικά εμβόλια και επιλέχθηκαν εκείνα με τη μεγαλύτερη θετική επίδραση στην ανάπτυξη και την αντοχή των ξενιστών στην ωσμωτική καταπόνηση. Θα ακολουθήσει ταυτοποίηση των επιλεγμένων απομονώσεων και εκ νέου αξιολόγηση των απομονωμένων στελεχών.

Τα αποτελέσματα του έργου, εκτός από το ότι μας βοηθούν να κατανοήσουμε το ρόλο των ΔΜΜ στα οριακά αμμοθινικά οικοσυστήματα, αποτελούν μια πρώτη ενθαρρυντική ένδειξη ότι η στοχευόμενη αξιοποίηση συγκεκριμένων γηγενών μυκόρριζικών απομονώσεων σε μη αρδευόμενα συστήματα καλλιέργειας ή σε εδάφη υψηλής αλατότητας θα μπορούσε να οδηγήσει σε σημαντική βελτίωση της φυτικής παραγωγής στα ξηρικά μεσογειακά ή υποβαθμισμένα οικοσυστήματα.



Επίδραση εμβολιασμού με μυκόρριζες στη ριζοβολία μοσχευμάτων ελιάς. Το κάθε φυτό (εκτός του μάρτυρα) έχει εμβολιασθεί με μυκόρριζικό εμβόλιο προερχόμενο από διαφορετική περιοχή της Ελλάδας.



Πληροφορίες: Ινστιτούτο Ελιάς, Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου Αγροκτίπιο, 73 100 Χανιά, **τηλ:** 28210 83430, **email:** nkavroulakis@nagrefcha.gr