

1. Wprowadzenie. 2. Arbuskularne grzyby mykoryzowe. 3. Budowa i właściwości glomalin. 4. Produkcja i rozkład glomalin. 5. Występowanie glomalin. 6. Terminologia i metodyka oznaczeń. 7. Funkcje glomalin. 8. Czynniki wpływające na spadek produkcji glomalin. 9. Podsumowanie

Glomalin – soil glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungus

Abstract: Glomalin is hydrophobic glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). AMF can excrete glomalin into the soil. Glomalin is an abundant soil protein that could sequester substantial amounts of carbon and sodium on a global scale. It has a positive influence on soil structure by increasing aggregate stability of soil, which correlates linearly with the amount of detected glomalin. Glomalin production has an impact on many environmental factors including soil condition. Its content in soil is dependent on both the types of plants and fungal symbiotic species. Glomalins are especially resistant to destruction and hard to dissolve in water. Their extraction from the soil requires specific conditions: high temperature (121°C) and citrate buffer with neutral or alkaline pH. These properties make glomalins very stable compounds that create a perfect protective “jacket” for soil aggregates against degradation. However, they are also difficult to understand and determining their exact construction is still a challenge.

1. Introduction. 2. Arbuscular mycorrhizal fungus. 3. Structure and properties of glomalin. 4. Production and decomposition of glomalin. 5. Origins of glomalin. 6. Terminology and methods. 7. Role of glomalin. 8. Factors affecting glomalin production. 9. Summary

Słowa kluczowe: arbuskularne grzyby mykoryzowe, gleba, glikoproteina, glomalina

Key words: arbuscular mycorrhizal fungus, soil, glycoprotein, glomalin

1. Wprowadzenie

Jednym z podstawowych i charakterystycznych składników gleby jest substancja organiczna [38, 58]. W jej skład wchodzi wszystkie obumarłe szczątki roślinne, zwierzęce, szczątki licznych drobnoustrojów oraz grzybów, jak również organiczne produkty ich rozkładu nagromadzone w różnej postaci w glebie i na jej powierzchni. Martwa substancja organiczna i produkty jej biochemicznych przemian decydują o korzystnym układzie całego kompleksu właściwości gleby, od których z kolei zależy jej żyzność i produktywność [29, 55]. Substancja organiczna odgrywa główną rolę w tworzeniu gruzełkowatej struktury gleby, ma bardzo duży wpływ na infiltrację wody, rozwój korzeni i odporność na erozję [37]. Materia ta jest także magazynem składników pokarmowych i warunkuje pojemność absorpcyjną dla kationów [37, 48]. Organizmy żywe (edafon) na ogół nie są zaliczane do substancji organicznej gleby, chociaż w warstwach ornych to właśnie edafon a w nim głównie mikroorganizmy oraz części podziemne roślin stanowią 10–15% całkowitej ogólnej masy materii organicznej gleby [5, 28, 58].

W środowisku glebowym najaktywniejszą biologicznie warstwą, ściśle powiązaną z życiem mikrobiologicznym i roślinami jest ryzosfera [21, 40]. Ryzosfera to przykorzeniowa warstwa gleby bezpośrednio przy-

legająca do korzeni roślin, obszar intensywnej aktywności biologicznej, cechujący się bogatą florą bakteryjną i grzybową, mający duży wpływ na pobieranie przez korzenie substancji pokarmowych [25]. Jest to gleba przesycona wydzielinami systemu korzeniowego i produktami zasiedlających ją drobnoustrojów, które wykorzystują wydzieliny korzeniowe jako źródło węgla, azotu i energii. W ryzosferze występują różnice w składzie jakościowym mikroorganizmów w zależności od gatunku rośliny oraz w składzie ilościowym, zależnie od stadium rozwojowego rośliny [21]. W ryzosferze licznie zachodzą dynamiczne (zarówno pozytywne jak i negatywne) interakcje pomiędzy mikroorganizmami oraz mikroorganizmami i rośliną [2, 21, 23, 35, 40].

Od wielu lat oddziaływanie pomiędzy glebą a korzeniami roślin i wpływ roślin na skład i cechy gleby są przedmiotem badań [2, 27, 35, 74, 75]. Jednym z najważniejszych przykładów symbiozy jest związek pomiędzy roślinami i grzybami mykoryzy arbuskularnej (*arbuscular mycorrhizal fungi* AMF) [27, 39, 42]. Grzyby mykoryzowe towarzyszą roślinom w ewolucji od czasów opanowania przez nie środowiska lądowego. Wspomagają adaptację roślin do nowych warunków: deficytu wody, przyswajanie składników pokarmowych, zmian temperatury, promieniowania UV i innych czynników potencjalnie stresogennych dla roślin [7, 10, 20, 27, 33, 42].

* Autor korespondencyjny: Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; tel. 081 8863421; e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl

Badania mykoryz zaowocowały niedawno odkryciem glomaliny – glikoproteiny produkowanej przez grzyby mykoryzy arbuskularnej głównie z rodzaju *Glomus* [74, 75]. Pomimo szerokiej wiedzy na temat korzystnego oddziaływania grzybów mykoryzowych na wzrost i rozwój roślin nadal stosunkowo niewiele wiadomo o dodatkowej roli środowiskowej tych grzybów, związanej z wytwarzaniem glomaliny i jej obecności w glebie. W naszym kraju nie prowadzono dotychczas szczegółowych badań nad tą substancją. Niniejsza publikacja jest próbą podsumowania dotychczasowej wiedzy na temat glomaliny, jej budowy, funkcji oraz występowania.

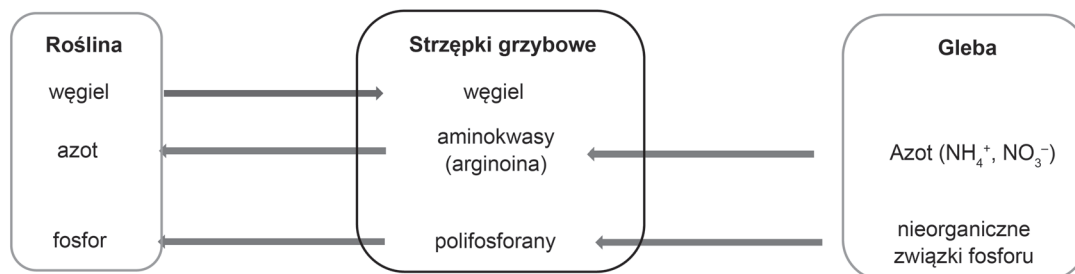
2. Arbuskularne grzyby mykoryzowe (AMF)

Powszechnie występującymi grzybami glebowymi, o kluczowym znaczeniu dla roślin, są arbuskularne grzyby mykoryzowe [17, 24, 27]. Symbioza grzybów AMF z roślinami jest prawdopodobnie najstarszym i najpowszechniej występującym na świecie związkiem pomiędzy grzybem a rośliną [33, 42]. Zewnętrzne struktury grzybów AMF to penetrujące glebę strzępki i pojedyncze spory spoczynkowe. Spory wytwarzane są bezpłciowo ze strzępek grzybowych, które służą rozmnażaniu i przetrwaniu tych grzybów w glebie. Symbiozę tę nazywa się symbiozą arbuskularną (AM), ponieważ jedyną strukturą obecną w komórkach miękkich korzeni roślin są arbuskule, tj. rozgałęzione końce strzępek, które biorą udział w dwustronnej wymianie węgla, fosforu i innych fizjologicznie znaczących cząstek [17, 35, 42, 53]. Symbioza AM jest powszechna w glebach o pH bliskim naturalnego, zawierających przyswajalny azot mineralny. Fosfor jest często składnikiem występującym w tych warunkach w ograniczonej ilości [52]. Wymiana składników pokarmowych zachodzi pomiędzy rozgałęzionymi

strzępkami grzybni a błoną komórkową rośliny, która nie ulega rozerwaniu (Rys. 1) [20, 33, 35, 52, 54].

Endomykoryza dominuje wśród roślin zielonych (co najmniej u 70–80% roślin na kuli ziemskiej), a stopień zasiedlenia korzeni rośliny przez grzyby mykoryzowe i ich aktywność podlega zmianom podczas sezonu wegetacyjnego [27]. Symbioza ta jest tworzona z wieloma trawami, niemal ze wszystkimi roślinami użytkowanymi rolniczo, w tym także z roślinami bobowatymi oraz niektórymi drzewami i krzewami [17]. Stopień zasiedlenia korzeni zwiększa się do fazy dojrzałości rośliny, jest często równocześnie sygnałem do zwiększonego wytwarzania spor przez strzępki pozakorzeniowe. Grzyby endomykoryzowe charakteryzują się zasiedleniem tkanki korzeniowej rośliny zarówno w przestrzeni międzykomórkowych jak i we wnętrzu komórek. Kolonizacja wnętrza korzeni przez strzępki grzybów endomykoryzowych powoduje zmiany zarówno morfologiczne jak i fizjologiczne u obu symbiontów, w tym zmianę składu i ilości wydzielin korzeniowych oraz produkcję glomaliny [33, 47, 75].

Grzyby AMF zostały zaklasyfikowane do gromady *Glomeromycota* (Tabela I) [7]. Gromada ta obejmuje jedną klasę *Glomeromycetes*, cztery rzędy (*Archaeosporales*, *Diversisporales*, *Glomerales*, *Paraglomerales*), 10 rodzin (*Acaulosporaceae*, *Ambisporaceae*, *Archaeosporaceae*, *Diversisporaceae*, *Entrophosporaceae*, *Geosiphonaceae*, *Gigasporaceae*, *Glomeraceae*, *Pacisporaceae*, *Paraglomeraceae*) i 15 rodzajów (*Acaulospora*, *Ambispora*, *Archaeospora*, *Diversispora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Intraspora*, *Geosiphon*, *Otospora*, *Pacispora*, *Paraglomus*, *Racocetra*, *Scutellospora*, *Umbospora*), które wyodrębniono w oparciu o budowę zarodników, morfologię grzyba oraz analizy genetyczne, głównie na podstawie filogenetycznej analizy sekwencji genu SSU rRNA [57]. Poznana jest dokładna filogeneza oraz taksonomia *Glomeromycota* wraz z bazą ok. 230 gatunków AMF [56]. Za produkcję glomaliny odpowiedzialne są



Istotą symbiozy AM jest wpływ na:

- odżywianie, udostępnianie i pobieranie fosforu, azotu, mikroelementów oraz przemieszczanie asymilatów,
- ochronę przed stresami abiotycznymi (susza, zasolenie, pH i temperatura) oraz stresem biotycznym (patogenami glebowymi, nicieniami, infekcje liściowe).
- procesy fizjologiczne (fotosynteza, gospodarka wodna, wymiana gazowa).
- procesy biochemiczne (aktywność enzymatyczną).
- poprawę struktury gleby (agregaty wodoodporne, produkcja glomaliny).

Rys. 1. Korzyści wynikające z symbiozy roślin z grzybami AMF

Tabela I
Klasyfikacja arbuskularnych grzybów mykoryzowych [7, 57]

Systematyka				
Gromada	<i>Glomeromycota</i> C. Walker & Schuessler			
Klasa	<i>Glomeromycetes</i> Cavalier- Smith			
Rząd	<i>Glomerales</i> J.B. Morton & Benny	<i>Paraglomerales</i> Walker & Schuessler	<i>Archaeosporales</i> C. Walker & Schuessler	<i>Diversisporales</i> C. Walker & Schuessler
Rodzina	<i>Glomeraceae</i> Piroz. & Dalpé	<i>Paraglomeraceae</i> J.B. Morton & D. Redecker	1. <i>Ambisporaceae</i> C. Walker, Vestberg & Schuessler 2. <i>Archaeosporaceae</i> J.B. Morton & D. Redecker emend. Oehl & Sieverd 3. <i>Geosiphonaceae</i> Engler. & E. Gilg emend. Schuessler	1. <i>Acaulosporaceae</i> J.B. Morton & Benny 2. <i>Diversisporaceae</i> C. Walker & Schuessler 3. <i>Entrophosporaceae</i> Oehl & Sieverd. 4. <i>Gigasporaceae</i> J.B. Morton & Benny 5. <i>Pacisporaceae</i> C. Walker, Blaszk., Schuessler & Scharzott
Rodzaj	<i>Glomus</i> Tul. & C. Tul.	<i>Paraglomus</i> J.B. Morton & D. Redecker.	1a. <i>Ambispora</i> Spain, Oehl & Sieverd. 1b. <i>Archaeospora</i> J.B. Morton & D. Redecker 2. <i>Intraspora</i> Oehl & Sieverd. 3. <i>Geosiphon</i> (Kütz.) F. Wettst.	1a. <i>Acaulospora</i> Gerd. & Trappe emend. S.M. Berch 1b. <i>Kuklospora</i> Oehl & Sieverd. 1c. <i>Acaulospora</i> Gerd. & Trappe emend. S.M. Berch 2a. <i>Diversispora</i> C. Walker & Schuessler 2.b. <i>Otopora</i> Oehl, J. Palenzuela & N. Ferrol 3. <i>Entrophospora</i> R.N. Ames & E.W. Schneid. Emend. Oehl & Sieverd 4a. <i>Gigaspora</i> Gerd. & Trappe emend. C. Walker & F.F. Sanders 4b. <i>Scutellospora</i> C. Walker, Blaszk., Schuessler & Schwarzott 5. <i>Pacispora</i> Oehl & Sieverd.
Grupy	<i>Glomus</i> – A <i>Glomus</i> – B			
Niektóre gatunki z rodzaju <i>Glomus</i> produkujące glomaliny: – <i>Glomus mosseae</i> – <i>Glomus etunicatum</i> – <i>Glomus fasciculatum</i> – <i>Glomus caledonium</i> – <i>Glomus clarum</i> – <i>Glomus intraradices</i> – <i>Glomus macrocarpus</i>				

głównie grzyby z rodzaju *Glomus* [7, 57]. U pozostałych przedstawicieli gromady *Glomeromycota* nie stwierdzono zdolności wytwarzania glomaliny za wyjątkiem niewielkich ilości glomaliny produkowanych przez rodzaj *Gigaspora* i *Acaulospora* [31].

Rodzaj *Glomus* obejmuje kilkadziesiąt gatunków, ponadto w obrębie tego rodzaju wyodrębniono dwie grupy, nie mające statusu taksonomicznego – *Glomus*-A i *Glomus*-B [7]. Grupa *Glomus*-A skupia gatunki,

których ściana zarodników nie posiada wewnętrznej, giętkiej warstwy. Grupę tę reprezentują m.in. *Gl. caledonium*, *Gl. coronatum* Giovannetti i *Gl. verruculosum* [7]. Głównymi gatunkami tworzącymi grupę *Glomus*-B są *Gl. claroideum* i *Gl. lamellosum*. Wspólną cechą tych grzybów jest wewnętrzna, giętka warstwa ściany ich zarodników, która u drugiego gatunku barwi się różowo do czerwonego w odczynniku Melzera [7, 57]. Do najczęściej spotykanych gatunków grzybów

z rodzaju *Glomus* produkujących glomaliny zaliczamy: *Glomus mosseae* (zakażający m.in. bób, bobik *Vicia faba* i pory *Allium porrum*) i *Glomus fasciculatum* znany jako partner (soi *Glycine max*) (Tabela I).

3. Budowa i właściwości glomalin

Już w latach 90-tych XX wieku prowadzono badania nad obecnością i udziałem węglowodanów w tworzeniu agregatów glebowych oraz wykazano pozytywne korelacje pomiędzy trwałością agregatów glebowych a ilością węglowodanów ekstrahowanych z gleby [47]. Analiza chemiczna frakcji organicznej wykazała, że znajdująca się w mikroagregatach substancja organiczna jest głównie pochodzenia mikrobiologicznego, zaś w agregatach glebowych jest większa zawartość składników pokarmowych niż w glebie poza nimi [38, 48]. Badania te stały się podstawą do dalszych analiz zawartości C, H i N w agregatach glebowych, co przyczyniło się do odkrycia glomalin [74, 75].

Glomaliny to bardzo charakterystyczne pod względem budowy i właściwościach fizykochemicznych białka grzybowe [12, 74, 75]. Są to stabilne cząsteczki białkowe, nierozpuszczalne w wodzie i odporne na degradację stabilizujące agregaty glebowe i chroniące je przed rozbięciem [37]. Pomimo wielu lat badań do tej pory nie udało się dokładnie określić budowy glomaliny. Biorąc pod uwagę dotychczasowe wyniki badań wiadomo, że jest to silnie hydrofobowa glikoproteina z łańcuchem oligosacharydowym na N-końcu [72, 74, 77]. To właśnie hydrofobowe domeny molekuly są odpowiedzialne za trudności w ich ekstrakcji i małą rozpuszczalność. Wiadomo, iż pod względem biochemicznym glomalina składa się z podjednostki białkowej i cukrowej, a główne pierwiastki wchodzące w skład jej budowy to: azot, węgiel, wodór, tlen, fosfor i żelazo (Tabela II) [72]. Zmienny skład pierwiastkowy w składzie budowy glomaliny zależy przede wszystkim od gatunku grzyba produkującego białko oraz warunków środowiskowych. Żelazo obecne w składzie glomaliny po pierwsze nadaje brunatno-czerwony odcień ekstraktowi białka, a po drugie jest odpowiedzialne za odporność roślin na stres i patogeny [68, 72].

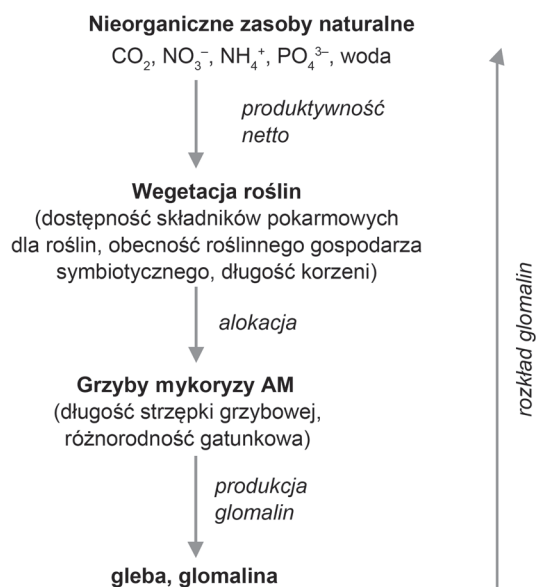
Tabela II
Skład pierwiastkowy glomaliny

Pierwiastek	Udział procentowy [%]
azot	od 1% do 5%
węgiel	od 36% do 59%
wodór	od 4% do 6%
tlen	od 33% do 49%
fosfor	od 0,03% do 0,1%
żelazo	od 0,8% do 8,8% Fe

Wyniki szeregu technik pomiarowych wykazały odmienną budowę strukturalną glomalin niż kwasu huminowego czy fulwowego oraz inny rozkład podjednostek białkowych i cukrowych w porównaniu do znanych już molekuł stanowiących glebową frakcję organiczną [48, 56]. Ponadto zespół naukowy pod kierunkiem Sary Wright wykazał, że waga glomalin jest od 2–24 razy większa niż kwasu huminowego, przy czym wiadomo, że kwas ten stanowi zaledwie 8% zawartości węgla w glebie [71, 74]. Z jednej strony takie właściwości powodują, że glomaliny są bardzo stabilnymi związkami będącymi idealnym płaszczem do ochrony agregatów glebowych przed degradacją, z drugiej zaś strony stwarzają duże trudności w poznaniu i ustaleniu dokładnej budowy tych cząsteczek.

4. Produkcja i rozkład glomalin

Produkcja i magazynowanie glomaliny następuje w strzępkach grzybów endomykoryzowych (Rys. 2) [10, 74, 75]. Strzępki mogą rosnąć nawet kilkanaście centymetrów ponad korzeniami uzyskując w ten sposób większy dostęp do substancji odżywczych zawartych w glebie. Analizy przy użyciu ilościowych metod immunoenzymatycznych m.in. metodą ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) i przeciwciał monoklonalnych wykazały dokładną lokalizację glomaliny we wnętrzu grzybni, dzięki czemu możliwe stało się wyjaśnienie sposobu rozmieszczenia i transportu tegoż białka do gleby [68].



Rys. 2. Produkcja i rozkład glomaliny w glebie

Początkowe badania Wright i Upadhyaya [68] przy użyciu technik immunofluorescencyjnych wykazały, że glomalina zlokalizowana jest głównie na powierzchni strzępek i spor grzybów AMF, i jako hydrofobowa war-

stwa okrywa grzybnię i chroni ją przed jej degradacją przez inne mikroorganizmy, a także zwiększa sztywność i trwałość ścian komórkowych ułatwiając rozprzestrzenianie się strzępek w glebie [75]. Uważano wówczas, iż glomaliny są białkowymi wydzielinami tylko żywych strzępek grzybowych [75], a „złuszczająca się” ze strzępek glomalina zostaje na korzeniach, okrywa resztki organiczne i cząstki glebowe, łącząc je ze sobą i tym samym utrzymując trwałość agregatów glebowych. Wright i Upadhyaya [74] zakładały, iż glomaliny na zasadzie transportu wymiennego, w momencie pobierania wody i składników odżywczych przez strzępki grzybowe, zostają „wyrzucone” na zewnątrz grzybni. Uważa się, iż podobnie jak translokacja fosforu wewnątrz grzybów AMF również i przemieszczanie się glomaliny w obrębie strzępki odbywa się poprzez ruch cytoplazmy [48, 49, 52].

Dopiero badania Driver i wsp. [11] podważyły tę hipotezę. Udowodniono bowiem, iż glomaliny są produkowane i magazynowane nie tylko podczas intensywnego wzrostu strzępki, ale również są przekazywane do gleby po obumarciu grzyba na skutek rozkładu grzybni (Rys. 2). Według tej teorii żywe strzępki grzyba nie wydzielają dużej ilości glomaliny do gleby, dopiero po rozkładzie grzybni większość zasobów glomaliny jest uwalniana do gleby [11, 62]. W miarę starzenia się strzępek pozakorzeniowych oraz korzeni roślin, biomasa grzybni ulega degradacji podczas gdy glomalina nie ulega rozkładowi. Większość jej, na ogół w niezmiennionej formie, pozostaje w glebie [46]. Ilość obecnych w glebie glomalin nie jest jednak równoznaczna z produkcją tej substancji przez grzyba i jego późniejszym rozkładem ale w dużej mierze wiąże się ze środowiskiem w jakim następuje mykoryza [43]. Warunki środowiskowe mają decydujący wpływ na efektywność symbiozy grzyba z rośliną a tym samym na produkcję glomaliny. Według Rilliga i Mummey'a [42] produkcja i rozkład glomaliny w środowisku glebowym wiąże się z wieloma czynnikami zarówno odnoszącymi się do fizyko-chemicznych właściwości gleby, jak i rośliny oraz gatunku grzyba tworzącego symbiozę AM. Struktura gleby i jej właściwości chemiczne mają istotny wpływ na wzrost grzybni, a tym samym na zawartość glomaliny w strzępkach grzybowych [46].

Według Rilliga i Steinberga [46] ilość glomalin obecnych w glebie może stanowić aż 5% węgla organicznego w glebie i azotu. Mimo, iż glomalina może stanowić istotny rezerwuar C i N w glebie to jednak mechanizm i ekofizjologiczne funkcje tego procesu nie są dokładnie poznane. Również tempo produkcji glomaliny przez grzyby AMF nie jest dokładnie określone. Wright i Upadhyaya [71] wykazały, iż w kontrolowanych warunkach podczas 14 tygodni wzrostu roślin tworzących symbiozę z określonym gatunkiem grzyba AMF produkcja glomaliny w zależności

od gatunku grzyba wahała się od 100 do 168 mg EE-IRSP m⁻² foli ogrodniczej.

Rillig i wsp. zakładali, iż ilość wytworzonej glomaliny powinna korelować liniowo z długością strzępek korzeniowych [44], bowiem dobrze rozwinięty system korzeniowy rośliny zapewnia większą dostępność do składników pokarmowych m.in. CO₂, NH₄⁺, NO₃⁻, PO₄³⁻ i wody. Z kolei Nichols i Wright [36] zakładały, iż największy wpływ na produkcję glomalin mają biologiczne właściwości gleby (głównie aktywność mikrobiologiczna gleby) oraz właściwości fizykochemiczne tj. struktura gleby, zawartość substancji ilastych (zapewniających fizyczną ochronę). Glomaliny obecne w glebie okrywają strzępki grzybni utrzymując wodę i składniki odżywcze przed utratą w drodze do i z rośliny [71]. Według Nichols i Wright [36] ilość węgla organicznego obecnego w strzępkach grzybowych stanowi od 5 do 90 C g m⁻². Natomiast Lovelock i inni [31] ocenili, iż zawartość glomaliny w tej biomase stanowi niewielki odsetek (0,4–6%).

Istnieje wiele badań dotyczące korelacji pomiędzy zawartością glomaliny w glebie a długością strzępek grzybowych [31, 36, 44]. Badania te nie wykazały jednoznacznie związku pomiędzy stężeniem tegoż białka w glebie a długością strzępki.

Badania Lovelock i wsp. [31] dotyczące oszacowania wydajności produkcji glomalin przez grzyby AMF prowadzone były w warunkach kontrolowanych na inkubowanych glebach lasów tropikalnych w Kostaryce oraz na piaszczystych glebach pod uprawą kukurydzy w Maryland USA. Produkcja łatwoekstrahowalnego immunoaktywnego białka glebowego EE-IRSP (*easily extractable immunoreactive soil protein*) po zaszczepieniu grzybnią mykoryzowa gleb w lasach deszczowych Kostaryki wahała się od 3,6 do 16,7 g EE-IRSP kg⁻¹ strzępki podczas 4 tygodniowej inkubacji, natomiast na glebie pod uprawą kukurydzy od 1,2 do 6,5 g EE-IRSP kg⁻¹ strzępki [31].

Lovelock i wsp. [31] wykazali, iż ilość białka EE-IRSP nie jest skorelowana z długością grzybni AMF. Wraz z przyrostem strzępki grzybowej wydajność produkcji glomaliny (w mikrogramach glomalin na metr strzępek) w zależności od gatunku grzyba istotnie zmniejszyła się. Produkcję znaczących ilości glomalin stwierdzono głównie u gatunków z rodzaju *Glomus* [75]. W badaniach Wright i Upadhyaya [71] dotyczących monokultury grzybów hodowanych w warunkach laboratoryjnych *Gigaspora rosea* i *Gigaspora gigantea* wykazano większą produkcję białka EE-IRSP w porównaniu do *Glomus intraradices* i *Glomus etunicatum*. Gatunki *Gigaspora rosea* i *Glomus caldonium* produkowały od 30 do 43% więcej EE-IRSP niż w przypadku *Glomus intraradices* [71]. W doświadczeniach polowych wyższe stężenia glomalin stwierdzano dla gatunków *Glomus* [67, 71].

W badaniach Lovelock i wsp. [31] również w kontrolowanych warunkach wzrostu grzybni dla gatunku *Acaulospora morrowiae* uzyskano stosunkowo wysokie stężenia białka EE-IRSP ($0,036 \mu\text{g m}^{-1}$ strzępki) w porównaniu z gatunkami *Gigaspora rosea*, *Glomus etunicatum*, i *Glomus intraradices* ($0,026$, $0,022$ i $0,0068 \mu\text{g m}^{-1}$ strzępki, odpowiednio). Analogiczny schemat doświadczenia przeniesiony do warunków polowych wykazywał większą produkcję glomaliny dla gatunku *Glomus* [1, 4, 31].

Za brak korelacji pomiędzy długością strzępki AMF i stężeniem glomaliny produkowanej przez dany gatunek może być odpowiedzialny szereg mechanizmów biotycznych i abiotycznych. Dla przykładu, średnica strzępki grzybowej może zmieniać się między próbkami, więc odcinki grzybni o różnej grubości nie stanowią dobrego wskaźnika produkcji glomaliny [31]. Również czas degradacji strzępki grzybowej i uwolnienia glomaliny do gleby jest zależny od gatunku grzyba [43, 44, 49, 51]. Czas rozkładu glomaliny szczególnie w środowisku naturalnym nie jest dobrze udokumentowany. Z doświadczeń laboratoryjnych wynika, iż czas rozkładu białka waha się w zależności od warunków środowiska i gatunku grzyba od kilku dni do kilku miesięcy [49, 51].

Rilling i wsp. [48] wykazali stosując węgiel aktywny ^{14}C , że okres całkowitego rozkładu glomaliny w glebach może wynosić nawet kilkanaście lat, a podatność na rozkład tych cząsteczek związanych z minerałami glebowymi lub z humusem może być jeszcze mniejsza.

Glomaliny ekstrahowane z gleby są bardzo podobne do glomaliny ekstrahowanych z pojedynczych kultur grzybowych pochodzących z doświadczeń laboratoryjnych. Badania te prowadzono w oparciu o metody: elektroforezy żelowej białek w warunkach denaturujących SDS-PAGE (*sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis*) [66, 67], spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego NMR (*nuclear magnetic resonance*) [48] elektroforezy kapilarnej [72] oraz analizy C, H, N [13, 48]. Istnieją zaledwie niewielkie różnice pomiędzy próbkami glomaliny ekstrahowanych z gleby i z kultur grzybowych *in vitro* [13]. Różnice te nie wynikają z budowy samej cząsteczki glomaliny ale jedynie z zawartości procentowej jej pojedynczych komponentów (C, N, P, Fe). Różnice te wydają się wynikać głównie z warunków wzrostu poszczególnych gatunków *Glomus* (temperatura, wilgotność, gleba, roślina). Badania Steinberg i Rilliga [61] dotyczące przechowywania gleby uwilgotnionej inkubowanej w ciemności w 18°C potwierdzają niewielkie różnice w zawartości glomaliny. Podczas inkubacji gleby długość strzępek spadła o 60% po 150 dniach inkubacji natomiast zawartość glomaliny ogólnych spadła o 25%, z kolei zawartość białek IRTG (*immunoreactive total glomalinalin*) zniknęła prawie całkowicie, zawartość łatwo-

ekstrahowalnych glomaliny EEG (*easily extractable glomalinalin*) nie uległa zmianie, natomiast zawartość białka IREEG – immunoreaktywnych łatwoekstrahowalnych glomaliny (*immunoreactive easily extractable glomalinalin*) wzrosła pięciokrotnie. W innym doświadczeniu [44] zawartość glomaliny ogólnych zmniejszyła się o 48 do 81% a glomaliny łatwoekstrahowalnych o 51 do 88% po 413 dniach inkubacji próbek glebowych w ciemności w temperaturze 20°C .

5. Występowanie glomaliny

Glomaliny występują powszechnie w różnych typach gleb [14, 16, 26, 36, 37, 62, 76]. Znaleziono je zarówno w glebach uprawianych rolniczo, glebach leśnych, łąkowych oraz nieużytkach rolnych (Tabela III). Skład szaty roślinnej biomu jest charakterystyczny dla określonego klimatu, choć bogactwo gatunków może być różne w zależności od położenia geograficznego i historii flory. Największe stężenie glomaliny odnotowano w tropikalnych glebach leśnych na Hawajach (ponad $100 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ gleby) [45, 48], natomiast najniższe stężenie glomaliny (poniżej $1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ gleby) stwierdzono w glebach pustynnych [45]. Gleby lasów tropikalnych, ze względu na wysoką temperaturę i dużą wilgotność, charakteryzują się niskim stężeniem glomaliny $0,7\text{--}1,5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ w przeciwieństwie do gleb z klimatu umiarkowanego i podzwrotnikowego, gdzie zaznacza się wysokie stężenie glomaliny nawet do $100 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ gleby, co tłumaczy się szybkimi zmianami klimatu, wysokim stężeniem żelaza w glebie oraz wysokim poziomem dwutlenku węgla w atmosferze stymulującym wzrost grzybów AMF [30, 31].

W badaniach Wright i Upadhyaya [73] na glebach leśnych stwierdzono zawartość glikoproteiny mieszczącej się w przedziale od 21 mg do 150 mg na g gleby. Zawartość glomaliny w glebach uprawnych Ameryki Południowej wahała się od około 2 mg do 15 mg \cdot g s.m. gleby [36].

Skład szaty roślinnej biomu oraz właściwości fizykochemiczne i biologiczne gleb, w tym zawartość węgla organicznego ma duże znaczenie w produkcji glomaliny przez grzyby AMF (Tabela IV). Aktywnie rozwijające się strzępki grzybów w glebie leśnej mogą wytwarzać od około 4 do prawie 17 mg glomaliny na miligram suchej masy grzybni [73].

W glebach uprawianych rolniczo w strefie klimatu umiarkowanego można stwierdzić ogólną zawartość glomaliny w zakresie od $0,35\text{--}0,75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby [69]. W glebach użytków zielonych (łąka, pastwisko) klimatu umiarkowanego zawartość glomaliny mieści się w zakresie od $0,2\text{--}2,7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby [32, 36]. Zawartości te są znacznie wyższe w glebach leśnych klimatu umiarkowanego i mieszczą się w zakresie $0,6\text{--}5,8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby [26,

Tabela III
Stężenia glomalin w zależności od środowiska

Środowisko (biom)	Lokalizacja	Immunoaktywne białko glebowe (IRSP) [g kg ⁻¹ gleby]	Literatura
gleba uprawna	Watkinsville, USA	0,56	[14]
gleba uprawna	Akron, USA	0,71	[65, 69]
gleba uprawna	RZD IUNG-PIB Kępa-Osiny, Polska	0,35-0,14 (TG, EEG)	[16]
lasy borealne	Delta Junction, USA	1,1	[62]
lasy klimatu umiarkowanego (puszcza)	Arch Rock, USA	1,3	[26]
puszcza	Cecil, GA	0,60	[36, 37]
puszcza	Lubrecht Experimental Forest, Montana USA	1,2	[61]
puszcza	Cordillera de Piuchué, Chile	4,9	[62]
puszcza	Duke Forest, USA	5,8	[62]
użytki zielone (łąka)	Missoula, USA	2,5	[32]
użytki zielone (łąka)	Pawnee, USA	0,29	[37]
użytki zielone (łąka)	Jasper Ridge, CA	0,82	[44]
lasy tropikalne	La Selva, Costa Rica	2,6	[30]
lasy tropikalne	Hawaii Volcanoes National Park and Kokee State Park, HI	9,2	[62]
lasy tropikalne	Hawaiian archipelago	13,5	[45]
pustynia	Jornada del Muerto, Nowy Meksyk	0,003	[6]
pustynia	Alicante, Hiszpania	0,11	[48]
pustynia	Sevilleta, Nowy Meksyk	0,13	[62]

Tabela IV
Zależność stężenia glomalin od obecności grzybów AM i glebowej materii organicznej w próbkach glebowych [9, 62]

Środowisko	Immunoaktywne białko glebowe (IRSP) [g kg ⁻¹ gleby]	Obecność grzybów AM [km skolonizowanych korzeni m ⁻² gleby]	Glebowa materia organiczna [kg C m ⁻² gleby]
gleba uprawna	0,53	1,5	nb
las borealny	1,1	0,28	19,3
pustynia	0,079	0,36	1,4
puszcza	2,5	0,31	12,7
łąka	0,69	17,74	13,3
las tropikalny	7,0	0,31	19,1

62]. Z kolei w borealnych lasach klimatu umiarkowanego (tajga) charakteryzującego się szerokim zakresem zmian temperaturowych (od -30°C do +20°C) zawartość glomalin przekracza 1 g·kg⁻¹ gleby [26]. Znacznie wyższe wartości glomalin ogólnych (3–14 g·kg⁻¹ gleby) można natomiast stwierdzić w tropikalnych lasach deszczowych [30]. Panujący tam mikroklimat charakteryzujący się wysoką temperaturą o niskich amplitudach dobowych i rocznych oraz wysokiej wilgotności powietrza sprzyja rozwojowi grzybów mykoryzowych a tym samym produkcji glomaliny. Najniższe zawartości glomaliny stwierdzono natomiast w glebach pustynnych, zaledwie 0,003–0,12 g·kg⁻¹ gleby [45]. Gleby te występujące na obszarach o bardzo niskim

zakresie opadów od 100 do 150 mm w ciągu roku oraz bardzo słabo zaznaczonym poziomem próchnicznym i silnym zasoleniu. Takie warunki nie są korzystne do rozwoju szaty roślinnej a tym samym symbiozy z grzybami mykoryzowymi.

Większość badań nad zawartością glomalin w glebie prowadzona była w powierzchniowej jej warstwie (0–30 cm), niemniej jednak znane są również badania prowadzone w głębszych warstwach gleby. Singh i inni stwierdził obecność glomaliny nawet na głębokości 140 cm profilu gleby [59]. Znaczne zawartości glomaliny stwierdzono także na glebach zalewowych w dolinach rzecznych i osadzie. W osadzie rzeczonym potwierdzono stężenie glomalin w ilości 9.66 mg·g⁻¹ [60].

6. Terminologia i metodyka oznaczeń

W terminologii dotyczącej glomalin możemy wyróżnić cztery główne grupy nazewnictwa w zależności od zastosowanej metodyki oznaczeń. Są to: białko glebowe oznaczane metodą Bradford (BRSP), łatwoekstrahowalne białko glebowe oznaczone metodą Bradford (EE-BRSP), immunoreaktywne białko glebowe (IRSP) oraz łatwoekstrahowalne immunoreaktywne białko glebowe (EE-IRSP) (Tabela V) [43, 51]. Nazewnictwo to dotyczy zarówno procesu ekstrakcji (glomalin ogólnie i glomalin łatwoekstrahowalne) oraz metody ich oznaczenia (metoda Bradford, metoda ELISA).

Ze względu na małą rozpuszczalność w wodzie ekstrakcję glomalin prowadzi się w wysokiej temperaturze (121°C; 250°F) w buforze cytrynianowym o odczynie neutralnym lub alkalicznym [36, 74, 75]. Łatwoekstrahowalne frakcje glomalin (EEG) z gleby ekstrahuje się 20 mM buforem cytrynianowym pH 7,0 przez 30 minut przy 121°C, natomiast ogólną zawartość glomalin (TG)

wyznacza się przy użyciu 50 mM buforu cytrynianowego przy pH 8,0 przez 60 minut w temp. 121°C, według metody opisanej przez Wright i Upadhyaya [74, 75].

W celu określenia stężenia glomaliny stosuje się metodę ilościowego oznaczania białka opisaną przez Bradford [8]. Metoda Bradford wykorzystuje fakt przesunięcia maksimum absorpcji roztworu barwnika Coomassie Brilliant Blue (CBB) G-250 z 465 nm do 595 nm po związaniu z białkiem. Częsteczką barwnika CBB oddziałuje poprzez grupy SO_3^- z dodatnio naładowanymi resztami aminokwasowymi. Z barwnikiem reagują głównie reszty argininy, w mniejszym stopniu reszty histydyny, lizyny, tyrozyny, tryptofanu i fenyloalaniny. Błękit brylantowy Coomassie G-250 w środowisku kwaśnym ma brunatne zabarwienie, które po reakcji z białkiem zmienia się na błękitne. Natężenie barwy jest proporcjonalne do zawartości białka w roztworze [8, 22, 74]. Pomiar spektrofotometryczny zmiany barwy roztworu białka odczytuje się przy długości fali 590 nm (A590), przy użyciu surowiczej albuminy wołowej (BSA)

Tabela V
Terminologia glomalin [43]

Terminologia	Symbol	Opis
glomalina	–	glikoproteina produkowana przez grzyby mykoryzy arbuskularnej; jeszcze nie do końca zidentyfikowany produkt grzybów AMF
glomalin ogólnie (<i>total glomalin</i>)	TG	frakcja glomalin gleby kilkakrotnie ekstrahowana przy użyciu 50 mM buforu cytrynianowego (pH 8,0), w autoklawie w temperaturze 121°C przez 60 minut
glomalin łatwoekstrahowalne (<i>easily extractable glomalin</i>)	EEG	frakcja glomalin gleb ekstrahowana jednorazowo przy użyciu 20 mM buforu cytrynianowego (pH 7,0) w autoklawie w temperaturze 121°C przez 30 minut
białko glebowe spokrewnione z glomalinami (<i>glomalin-related soil protein</i>)	GRSP	stanowi łączny udział glomalin w glebie, ewentualnie zawiera inne białko gleby; jest to frakcja glomalin gleby kilkakrotnie ekstrahowana przy użyciu 50 mM buforu cytrynianowego (pH 8,0), w autoklawie w temperaturze 121°C przez 60 minut
łatwoekstrahowalne białka glebowe spokrewnione z glomalinami (<i>easily extractable glomalin-related soil protein</i>)	EE-GRSP	łączna frakcja glomalin łatwoekstrahowalnych oraz innych białek glomalinopodobnych spokrewnionych z glomalinami; frakcja glomalin gleb ekstrahowana raz przy użyciu 20 mM buforu cytrynianowego (pH 7,0) w autoklawie w temperaturze 121°C przez 30 minut
białko glebowe oznaczane metodą Bradford (ang. <i>Bradford-reactive soil protein</i>)	BRSP	ogólne białko glebowe oznaczone metodą Bradford; łączne oznaczenie glomalin i innych białek w całym ekstrakcie glebowym; ekstrakcja przeprowadzana jak w przypadku glomalin TG
łatwoekstrahowalne białko glebowe oznaczone metodą Bradford (ang. <i>easily extractable Bradford-reactive soil protein</i>)	EE-BRSP	łatwoekstrahowalne białko glebowe oznaczone metodą Bradford; łączne oznaczenie glomalin łatwoekstrahowalnych i innych białek w całym ekstrakcie glomalin; ekstrakcja przeprowadzana jak w przypadku glomalin EEG
immunoaktywne białko glebowe (<i>immunoreactive soil protein</i>)	IRSP	białko glebowe oznaczone przy użyciu testu ELISA z przeciwciałami monoklonalnymi specyficznymi dla glomalin MAb32B11; w tym przypadku nie mogą reagować inne białka poza glomalinami; ekstrakcja przeprowadzana jak w przypadku glomalin TG
łatwoekstrahowalne immunoaktywne białko glebowe (<i>easily extractable immunoreactive soil protein</i>)	EE-IRSP	łatwoekstrahowalne białko glebowe oznaczone przy użyciu testu ELISA z przeciwciałami monoklonalnymi specyficznymi dla glomalin MAb32B11; w tym przypadku nie mogą reagować inne białka poza łatwoekstrahowanymi glomalinami; ekstrakcja przeprowadzana jak w przypadku glomalin EEG

jako standardu w zakresie od 1,25 do 50 μg (BSA) w soli fizjologicznej buforowanej fosforanem (PBS). Z uzyskanej krzywej wzorcowej odczytuje się zawartości glomalin ogólnych i łatwoekstrahowalnych [43].

Terminologię stosowaną w pracach analizy glomalin podano w Tabeli V na podstawie publikacji Rilliga [43]. Oprócz znanego w literaturze nazewnictwa glomalin (TG, EEG) Rillig [43] zaproponował także definicję tzw. białek glebowych spokrewnionych z glomalinaми (GRSP) oraz tzw. białek glebowych oznaczanych metodą Bradford (*Bradford-reactive soil protein* BRSP) [54].

W przypadku określenia ogólnej zawartości glomalin (TG) stosuje się również test immunoenzymatyczny tzw. metodę ELISA jeden z najpowszechniej stosowanych testów w badaniach biologicznych, zarówno naukowych, jak i diagnostycznych. Służy on do wykrycia określonych białek w badanym materiale z użyciem przeciwciał poliklonalnych lub monoklonalnych skoniugowanych z odpowiednim enzymem [59, 60]. Przeciwciałami monoklonalnymi specyficznymi dla glomaliny są przeciwciała MAb32B11 [68]. W podstawowej wersji testu ELISA, pewna ilość antygeny unieruchomiona jest na powierzchni fazy stałej. Wykonanie testu rozpoczyna się od wprowadzenia materiału biologicznego, w którym badana będzie obecność przeciwciał specyficznych dla unieruchomionego antygeny. Unieruchomiony antygen i specyficzne dla niego przeciwciała – o ile są obecne w materiale biologicznym – tworzą kompleks, dzięki któremu przeciwciała zostają trwale związane z podłożem. Po przepłukaniu środowiska reakcji, dodawany jest tzw. koniugat czyli przeciwciała skierowane przeciw przeciwciałom swoistym połączone wiązaniem kowalencyjnym z enzymem. Po ponownym przepłukaniu środowiska reakcji i dodaniu odpowiedniego substratu, enzym zawarty w koniugacie katalizuje reakcję, której produkt (najczęściej barwny) można ocenić ilościowo metodą spektrofotometryczną, służącą do pomiaru intensywności barwy. Poziom intensywności barwy, zależny od stężenia produktu reakcji enzymatycznej, jest proporcjonalny do stężenia przeciwciał w próbce. Równoległe do próbek badanych, przeprowadza się analogiczne etapy reakcji dla tzw. surowic kalibracyjnych (kalibratorów) o znanym stężeniu badanego przeciwciała [68]. Wyniki uzyskane dla kalibratorów pozwalają wykreślić krzywą kalibracyjną, stanowiącą wykres zależności intensywności barwy od

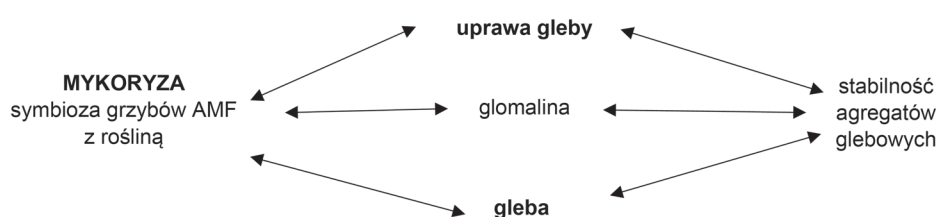
stężenia przeciwciał w próbce. Z równania krzywej kalibracyjnej oblicza się stężenie przeciwciał w próbkach badanych. W przypadku oznaczeń ogólnej zawartości glomalin metodą tą oznacza się immunoreaktywne białko glebowe zaś w przypadku glomalin łatwoekstrahowalnych oznacza się – łatwoekstrahowalne immunoreaktywne białko glebowe [43]. Oznaczenia glomalin ogólnych mogą być często niemiarodajne, ponieważ oprócz typowych glomalin test może wykryć również inne białka należące do glebowej frakcji organicznej a niekoniecznie same glomaliny [34]. Bardziej wiarygodne w ocenie trwałości agregatów glebowych staje się więc oznaczenie białek EEG, których wartości mogą odzwierciedlać rzeczywistą zawartość glomalin w glebie [65, 66]. Tłumaczyć to można także tym, iż glomaliny ogólne charakteryzuje znacznie mniejsza immunoreaktywność w porównaniu do łatwoekstrahowalnych glomalin, które można wykryć z użyciem przeciwciał monoklonalnych [68].

7. Funkcje glomalin

Glomaliny odgrywają znaczącą rolę głównie w tworzeniu gruzełkowatej struktury gleby, ułatwiając zlepianie cząstek mineralnych (Rys. 3) [70, 73]. Białko to obkleja powierzchnię cząsteczek gleby, tworzy również charakterystyczną powłokę na ich powierzchni. Z badań Rillig i wsp. [47] wynika, iż glomaliny stanowią około 2% ogólnej wagi agregatów glebowych oraz od 4 do 5% całkowitego C i N w glebach.

Tak więc, nawet tylko pod względem ilościowym frakcja glomaliny jest bardzo istotną frakcją glebowej materii organicznej [70]. Znając również właściwości glomaliny, a zwłaszcza jej hydrofobowość i wyżej wspomnianą trwałość w środowisku glebowym, łatwo mogli zakładać odkrywcy tej frakcji MO, że odgrywa ona ważną rolę w tworzeniu i stabilizacji gruzełkowatej struktury gleb. Stąd też poprzez produkcję glomalin grzyby te budzą rosnące zainteresowanie jako potencjalny czynnik wspomagania wzrostu i zdrowotności roślin oraz poprawy struktury gleby.

Silnie hydrofobowy, polisacharydowy łańcuch glomalin jest odpowiedzialny także za wyłapywanie i przyłączanie do siebie drobnych cząstek glebowych a nawet mikroorganizmów. W ten sposób dobrze zagregowana



Rys. 3. Funkcje glomalin

struktura gleby utrzymuje odpowiednie przewietrzanie, wilgotność oraz odpowiedni skład komponentów niezbędnych do optymalnego wzrostu uprawianych roślin [19, 69]. Rola grzybów AMF w agregacji, a tym samym zwiększeniu infiltracji wody, ochronie materii organicznej (SOM) przed rozkładem, wzroście odporności gleb na erozję, wydaje się tak samo ważna, a może nawet ważniejsza niż rola w absorpcji składników pokarmowych. Dlatego kontrola wzrostu grzybów mykoryzowych i produkcja glomaliny mogą być przydatne do monitorowania pustynnienia i degradacji gleby [14]. W badaniach Franzluebbers i wsp. [14] stabilność agregatów glebowych była słabiej skorelowana z zawartością glomaliny, co autorzy tłumaczą wieloletnim charakterem poszczególnych systemów uprawy, a więc ustabilizowanym środowiskiem glebowym oraz dodatkowo wysoką zawartością materii organicznej w glebie.

Stwierdzono, że istnieje bardzo ścisła zależność pomiędzy długością strzępek grzybów w glebie a ilością w niej agregatów wodoodpornych [19]. Dotychczasowe badania z tego zakresu rzeczywiście wykazały istotne zależności pomiędzy zawartością glomaliny w 1–2 mm gruzełkach glebowych, a ich stabilnością (wodoodpornością) [69].

Ponadto udowodniono, że grzyby AMF chronią rośliny przed takimi patogenami, jak *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia* a także przed atakiem nicieni [3]. Mechanizm obrony polega na tworzeniu bariery fizycznej i produkcji antybiotyków. Grzyby AMF oprócz węglowodanów i fosforu pobierają także cynk i miedź, a w warunkach deficytu tych pierwiastków znacznie podnoszą plony [48]. Badania nad ochroną roślin motylkowatych zainfekowanych AMF – na przykładzie *Vicia faba* – rosnących na glebie o wysokiej zawartości manganu dowiodły, że mykoryza skutecznie chroniła je przed toksycznym działaniem tego pierwiastka [3]. Metale ciężkie wiązane są przez grupy karboksylowe związków pektynowych (hemicelulozy) wypełniających przestrzeń pomiędzy grzybem a komórką roślinną. Przypuszcza się, że w proces ten zaangażowane są także glomaliny [3].

W literaturze znana jest również rola glomaliny w tolerancji roślin na stres [15, 18, 41]. Z badań Gadkar i Rilliga [15] wynika, iż glomaliny mogą być związane z białkiem szoku cieplnego *hsp60* (*heat shock proteins*). Ekspresja tych białek wzrasta kiedy komórki są narażone na działanie czynników stresowych, m.in. podwyższonej temperatury, ale również niskiej temperatury, stresu solnego, osmotycznego i metali ciężkich. Produkcja białek *hsp* może wzrastać także w odpowiedzi na infekcje, zapalenie, działanie toksyn, promieniowanie UV, głodzenie, niedotlenienie itp. Białka *hsp* działają jako białka opiekuńcze odpowiedzialne za prawidłowe zwijanie się innych białek, ich oligomeryzację, translokację oraz degradację. Funkcje tych

białek są podobne u wszystkich organizmów żywych a ich sekwencja aminokwasowa jest silnie konserwatywna. Porównanie glomaliny z białkami szoku cieplnego może pozwolić na wyjaśnienia w jaki sposób stres dotykający komórki grzyba tj. metale ciężkie, skażenie gleby, zmiany klimatyczne może spowodować zwiększenie produkcji glomaliny i wzrost grzybni [18, 41]. Niesprzyjające do wzrostu grzybów endomykoryzowych warunki mogą zatem być powodem zwiększenia przez nie produkcji glomaliny – ochrona grzybni przyczynia się do możliwości wzrostu grzyba w skażonych glebach [25, 41].

8. Czynniki wpływające na spadek produkcji glomaliny

Na produkcję glomaliny ma wpływ wiele czynników zarówno środowiskowych, glebowych jak i klimatycznych. Podstawowym czynnikiem wpływającym na znaczną produkcję glomaliny są optymalne warunki do rozwoju grzybów AMF wynikiem czego jest aktywna symbioza pomiędzy rośliną a grzybem [17, 27, 63]. Stopień zasiedlenia korzeni roślin przez grzyby AMF może być regulowany dodatkowo przez podatność rośliny na infekcję jak i poprzez aktywność infekcyjną spor tych grzybów występujących w glebie, w której wzrasta dana roślina [63]. Liczebność i aktywność symbiotyczna grzybów AMF a tym samym wzrost produkcji glomaliny może być zwiększona zarówno poprzez modyfikację warunków glebowych sprzyjających namnażaniu i aktywności spor, jak i przez wprowadzanie do ryzofermy wyselekcjonowanych drobnoustrojów wspomagających proces mykoryzacji. Głównymi wyznacznikami produkcji glomaliny są zarówno gatunek grzyba tworzącego symbiozę jak i rodzaj rośliny [62]. Znane są liczne prace, w których autorzy potwierdzają korelację wzrostu roślin z kolonizacją korzeni przez grzyby mykoryzowe. Idzie za tym również korelacja wzrostu rośliny i a tym samym produkcji glomaliny [63]. Szereg roślin tj. stokłosa bezostna (*Bromus inermis*), trawa sudańska (*Sorghum bicolor*), babka lancetowata (*Plantago lanceolata*) wykazuje aktywną symbiozę z grzybami AMF [27, 63]. W przypadku tych roślin stwierdzono istotny wzrost plonu z jednoczesnym stwierdzeniem znacznych ilości białka spokrewnionego z glomalinami (tzw. białka GRP) w korzeniach roślin i w glebie ryzoferowej [51]. W warunkach polowych, wpływ rośliny na produkcję glomaliny może być bardziej widoczny niż efekt obserwowany w kontrolowanych warunkach na przykładzie pojedynczego rodzaju rośliny i gatunku grzyba [62]. Wilson i wsp. [64] potwierdzili pewną specyfikę układu gatunkowego symbioz AMF i poziomu glomaliny w strzępkach grzybowych.

Do czynników niekorzystnie wpływających na prawidłowe funkcjonowanie mykoryzy arbuskularnej

należą m.in: uprawa mechaniczna, stosowanie środków ochrony roślin, intensywne nawożenie, wprowadzenie zanieczyszczeń z nawozami naturalnymi [43]. Również właściwości fizykochemiczne gleb oraz stosowany system uprawy roli ma istotny wpływ na zawartość glomaliny w glebie [50, 65].

9. Podsumowanie

Stabilność struktury gleby istotnie wpływa na charakter i zawartość materii organicznej w glebie. Użytkowanie gruntów i stosowanie szeregu zabiegów uprawowych ma wpływ na ilość i jakość materii organicznej gleby a tym samym na jej agregację. Grzyby mykoryzowe są jednym z najważniejszych czynników biotycznych warunkujących jakość środowiska glebowego. Odgrywają bardzo ważną rolę w ekosystemach agrarnych, a poprzez produkcję glomaliny mogą stanowić istotny czynnik pozytywnego oddziaływania na wzrost i zdrowotność roślin w każdym systemie uprawy, a także można je wykorzystać w zabiegach poprawiających strukturę gleby, przy stabilizacji gruntów na obszarach podatnych na erozję i gruntów poddawanych rekultywacji. Można spodziewać się, że w przyszłości dokładniej poznana budowa i funkcje glomaliny przyczynią się do uzyskania znacznych efektów wzrostu roślin w uprawach polowych. Skuteczność kompleksowego podejścia do problemów wzajemnych oddziaływań pomiędzy roślinami i drobnoustrojami glebowymi potwierdzają liczne badania, gdzie uwzględniono nie tylko dobór roślin do określonych warunków glebowych ale również wykorzystywanie wspomagającej ich wzrost mikroflory glebowej. W wielu ośrodkach badawczych prowadzone są intensywne badania nad możliwością wykorzystania drobnoustrojów glebowych, w tym także grzybów AMF w praktyce rolniczej. Produkcja glomaliny i jej rola w stabilizacji struktury gleby staje się więc dla środowiska glebowego alternatywną metodą wspierającą rolnictwo zrównoważone.

Piśmiennictwo

- Bai Ch., He X., Tang H., Shan B., Zhao L.: Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi, glomalin and soil enzymes under the canopy of *Astragalus adsurgens* Pall. in the Mu Us sandland, China. *Soil Biol. Biochem.* **41**, 941–947 (2009)
- Barea J.M., Pozo M.J., Azcon R., Azcon-Aguilar C.: Microbial cooperation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* **56**, 1761–1778 (2005)
- Bedini S., Pellegrino E., Avio L., Pellegrini S., Bazzoffi P., Argese E., Giovannetti M.: Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. *Soil Biol. Biochem.* **41**, 1491–1496 (2009)
- Bedini S., Turrini A., Rigo Ch., Argese E., Giovannetti M.: Molecular characterization and glomalin production of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing a heavy metal polluted ash disposal island, downtown Venice. *Soil Biol. Biochem.* **42**, 758–765 (2010)
- Bielińska E.J., Kolodziej B., Sugier D.: Relationship between organic carbon content and the activity of selected enzymes in urban soils under different anthropogenic influence. *J. Geochem. Explor.* **129**, 52–56 (2013)
- Bird S.B., Herrick J.E., Wander M.M., Wright S.F.: Spatial heterogeneity of aggregate stability and soil carbon in semi-arid rangeland. *Environ. Pollut.* **116**, 445–455 (2012)
- Błaszowski J.: Przeszłość, teraźniejszość i przyszłość klasyfikacji arbuskularnych grzybów mikoryzowych. *Kosmos*, **53**, 17–24, 2004
- Bradford M.M.: A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248–254 (1976)
- Burrows R. L.: Glomalin Production and Infectivity of Arbuscular-Mycorrhizal Fungi in Response to Grassland Plant Diversity. *Am. J. Plant Sci.* **5**, 103–111 (2014)
- Buyer J.S., Zuberer D.A., Kristine A., Nichols K.A., Franzluebbers A.J.: Soil microbial community function, structure, and glomalin in response to tall fescue endophyte infection. *Plant Soil*, **339**, 401–412 (2011)
- Driver J.D., Holben W.E., Rillig M.C.: Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* **37**, 101–106 (2005)
- Feeney D.S., Daniell T., Hallett P.D., Illian J., Ritz K., Young I.M.: Does the presence of glomalin relate to reduced water infiltration through hydrophobicity? *Can. J. Soil Sci.* **84**, 365–372 (2004)
- Frank V. Schindler F.V., Mercer E.J., Rice J.A.: Chemical characteristics of glomalin-related soil protein (GRSP) extracted from soils of varying organic matter content. *Soil Biol. Biochem.* **39**, 320–329 (2007)
- Franzluebbers A.J., Wright S.F., Stuedemann J.A.: Soil aggregation and glomalin under pastures in the Southern Piedmont USA. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **64**, 1018–1026 (2000)
- Gadkar V., Rillig M.C.: The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin is a putative homolog of heat shock protein 60. *FEMS Microbiol. Lett.* **263**, 93–101 (2006)
- Gałązka A.: Charakterystyka glomaliny i oddziaływania różnych systemów uprawy na ich zawartość w glebie. *Pol. J. Agronom.* **15**, 75–82 (2013)
- Gerdemann J.W.: Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Annu. Rev. Phytopath.* **6**, 397–418, (1968)
- Gillespie A.W., Farrell R.E., Walley F.L., Ross A.R.S., Leinweber P., Eckhardt K.-U., Regier T.Z., Blyth R.I.R.: Glomalin-related soil protein contains non-mycorrhizal-related heat-stable proteins, lipids and humic materials. *Soil Biol. Biochem.* **43**, 766–777 (2011)
- Guo H., He X.L., Li Y.P.: Spatial distribution of arbuscular mycorrhiza and glomalin in the rhizosphere of *Caragana korshinskii* Kom. in the Otindag sandy land, China. *Afr. J. Microbiol. Res.* **6**, 5745–5753 (2012)
- Hallett P.D., Feeney D.S., Bengough A.G., Rillig M.C., Scrimgeour C.M., Young I.M.: Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport. *Plant Soil*, **314**, 183–196 (2009)
- Hinsinger P., Gobran G.R., Gregory P.J., Wenzel W.W.: Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *New Phytol.* **168**, 293–303 (2005)

22. Hontoria Ch., Velasquez R., Benito M., Almorox J., Moliner A.: Bradford-reactive soil proteins and aggregate stability under abandoned versus tilled olive groves in a semi-arid calcisol. *Soil Biol. Biochem.* **41**, 1583–1585 (2009)
23. Idris A., Labuschagne N., Korsten L.: Efficacy of rhizobacteria for growth promotion in sorghum under greenhouse conditions and selected modes of action studies. *J. Agric. Sci.* **147**, 17–30 (2009)
24. Kamiński F.: Die Vegetationsorgane der *Monotropa hypopitys*. *L. Bot. Zeitschr.* **29**, 225–234 (1881)
25. Khan A.G.: Role of soil microbes in the rhizosphere of plants growing on the trace metal contaminated soils in the phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Bio.* **18**, 355–364 (2005)
26. Knorr M.A., Boerner R. E. J., Rillig M. C.: Glomalin content of forest soils in relation to fire frequency and landscape position. *Mycorrhiza*, **13**, 205–210 (2003)
27. Koide R.T., Mosse B.: A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza*, **14**, 145–163 (2004)
28. Lee J.E., Eom A.-H.: Effect of Organic Farming on Spore Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Glomalin in Soil. *Mycobiology*, **37**, 272–276 (2009)
29. Liu Q.M., Cao Y.L., Huang Y.F., Zhang Y.P., Lin J.Q., Lin J.M., Xu L.S.: Soil organic matter dynamics after C₃-C₄ vegetation change of red soil in southern China: Evidence from natural ¹³C abundance. *Contemp. Probl. Ecol.* **6** (5), 513–519 (2013)
30. Lovelock C.E., Wright S.F., Nichols K.A.: Using glomalin as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal growth: an example from a tropical rain forest soil. *Soil Biol. Biochem.* **36**, 1009–1012 (2004)
31. Lovelock C.E., Wright S.F., Nichols K.A.: Using glomalin as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal growth: an example from a tropical rainforest soil. *Soil Biol. Biochem.* **36**, 1009–1012 (2004)
32. Lutgen E.R., Muir-Clairmont D., Graham J., Rillig M.C.: Seasonality of arbuscular mycorrhizal hyphae and glomalin in a western Montana grassland. *Plant Soil*, **257**, 71–83 (2003)
33. Miller R.M., Jastrow J.D.: Mycorrhizal fungi influence soil structure. *Molecul. Biol. Physiol.* **40**, 3–18 (2000)
34. Mirás-Avalos J.M., Antunes P.M., Koch A., Khosla K., Klironomos J.N., Dunfield K.E.: The influence of tillage on the structure of rhizosphere and root-associated arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Pedobiologia*, **54**, 235–241 (2011)
35. Newman E.I.: Mycorrhizal links between plants: their functioning and ecological significance. *Adv. Ecol. Res.* **18**, 243–270 (1988)
36. Nichols K.A., Wright S.F.: Comparison of glomalin and humic acid in eight native US soils. *Soil Sci.* **170**, 985–997 (2005)
37. Nichols K.A., Wright S.F.: Carbon and nitrogen in operationally-defined soil organic matter pools. *Biol. Fertil. Soils*, **43**, 215–220 (2006)
38. Oades J.M.: Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. *Plant Soil*, **76**, 319–337 (1984)
39. Parniske M.: Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol.* **6**, 763–775 (2008)
40. Phillips R.P., Fahey T.J.: The influence of soil fertility on rhizosphere effects in northern hardwood forest soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **72**, 453–461 (2008)
41. Purin S., Rillig M.C.: The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin: limitations, progress, and a new hypothesis for its function. *Pedobiologia*, **51**, 123–130 (2007)
42. Rillig M.C., Mummey D.L.: Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol.* **171**, 41–53 (2006)
43. Rillig M.C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Can J. Soil. Sci.* **84**, 355–363 (2004)
44. Rillig M.C., Maestre F.T., Lamit L.J.: Microsite differences in fungal hyphal length, glomalin, and soil aggregate stability in semiarid Mediterranean steppes. *Soil Biol. Biochem.* **35**, 1257–1260 (2003)
45. Rillig M.C., Ramsey P.W., Morris S., Paul E.A.: Glomalin, an arbuscular mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant Soil*, **253**, 293–299 (2003)
46. Rillig M.C., Steinberg P.D.: Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification? *Soil Biol. Biochem.* **34**, 1371–1374 (2002)
47. Rillig M.C., Wright S.F., Eviner V.T.: The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant Soil*, **238**, 325–333 (2002)
48. Rillig M.C., Wright S.F., Nichols K.A., Schmidt W.F., Torn M.S.: Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant Soil*, **233**, 167–177 (2001)
49. Rillig, M.C., Wright S.F., Kimball B.A., Pinter P.J., Wall G.W., Ottman M.J., Leavitt S.W.: Elevated carbon dioxide and irrigation effects on water stable aggregates in a Sorghum field: a possible role for arbuscular mycorrhizal fungi. *Glob. Change Biol.* **7**, 333–337 (2001)
50. Roger-Estrade J., Anger Ch., Bertrand M., Richard G.: Tillage and soil ecology: Partners for sustainable agriculture. *Soil Till. Res.* **111**, 33–40 (2010)
51. Rosier C.L., Piotrowski S.J., Hoye A.T., Rillig M.C.: Intraradical protein and glomalin as a tool for quantifying arbuscular mycorrhizal root colonization. *Pedobiologia*, **52**, 41–50 (2008)
52. Rosolem C.A., Calonego J.C.: Phosphorus and potassium budget in the soil-plant system in crop rotations under no-till. *Soil Till. Res.* **126**, 127–133 (2013)
53. Ruiz-Lozano J.M., Azcón R.: Symbiotic efficiency and infectivity of an autochthonous arbuscular mycorrhizal *Glomus* sp. from saline soils and *G. deserticola* under salinity. *Mycorrhiza*, **10**, 137–143 (2000)
54. Ryan, M.H., Graham J.H.: Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture? *Plant Soil*, **244**, 263–271 (2002)
55. Sarkar D., Kumar De D., Das R., Mandal B.: Removal of organic matter and oxides of iron and manganese from soil influences boron adsorption in soil. *Geoderma*, 214–215, 213–216 (2014)
56. Schüßler A.: Phylogeny and taxonomy of *Glomeromycota* ('arbuscular mycorrhizal (AM) and related fungi'), <http://www.amf-phylogeny.com> (18 marca 2015 roku)
57. Schüßler A., Schwarzott D., Walker C.: A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* **105**, 1413–1421 (2001)
58. Simansky V., Bajcan D., Duclay L.: The effect of organic matter on aggregation under different soil management practices in a vineyard in an extremely humid year. *Catena*, **101**, 108–113 (2013)
59. Singh P.K., Singh M., Tripathi B. N.: Glomalin: an arbuscular mycorrhizal soil protein. *Protoplasma*, **250**, 663 – 669 (2013)
60. Singh P. K.: Role of glomalin related soil protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Agric. Sci. Res. J.* **2**, 119–125 (2012)
61. Steinberg P.D., Rillig M.C.: Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalin. *Soil Biol. Biochem.* **35**, 191–194 (2003)
62. Treseder K.K., Turner K.M.: Glomalin in ecosystems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **71**, 1257–1266 (2007)
63. Viola H.A., Treseder M.J.A., Wright S.F., Lovatt C.J.: Density dependence and interspecific interactions between arbuscular mycorrhizal fungi mediated plant growth, glomalin production, and sporulation. *Can. J. Bot.* **85**, 63–75 (2007)

64. Wilson G. W. T., Rice C. W., Rillig M. C., Springer A., Hartnett D. C.: Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecol. Lett.* **12**, 452–461 (2009)
65. Wright S.F., Green V.S., Cavigelli M.A.: Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems. *Soil Till. Res.* **94**, 546–549 (2007)
66. Wright S.F., Nichols K.A., Schmidt W.F.: Comparison of efficacy of three extractants to solubilize glomalin on hyphae and in soil. *Chemosphere*, **64**, 1219–1224 (2006)
67. Wright S.F., Jawson L.: A pressure cooker method to extract glomalin from soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **65**, 1734–1735 (2001)
68. Wright S.F.: A fluorescent antibody assay for hyphae and glomalin from arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, **226**, 171–177 (2000)
69. Wright S.F., Anderson R. L.: Aggregate stability and glomalin in alternative crop rotations for the central Great Plains. *Biol. Fert. Soils* **31**, 249–253 (2000)
70. Wright S.F., Starr J.L., Paltineanu I.C.: Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **63**, 1825–1829 (1999)
71. Wright S.F., Upadhyaya A.: Quantification of arbuscular mycorrhizal activity by the glomalin concentration on hyphae. *Mycorrhiza*, **8**, 283–285 (1999)
72. Wright S.F., Upadhyaya A.: Comparison of N-linked oligosaccharides of glomalin from arbuscular mycorrhizal fungi and soil by capillary electrophoresis. *Soil Biol. Biochem.* **30**, 1853–1857 (1998)
73. Wright S.F., Upadhyaya A.: A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, **198**, 97–107 (1998)
74. Wright S.F., Franke-Snyder M., Morton J.B., Upadhyaya A.: Time course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant Soil*, **181**, 193–203 (1996)
75. Wright S.F., Upadhyaya A.: Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein from arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci.* **161**, 575–586 (1996)
76. Wu F.S., Dong M. X., Liu Y.J., Ma X.J., An L.Z., Young J.P.W., Feng H.Y.: Effects of long-term fertilization on AM fungal community structure and glomalin-related soil protein in the Loess Plateau of China. *Plant Soil*, **342** (1–2), 233–247 (2011)
77. Wu Q.S., He X.H., Zou Y.N., He K.P., Sun Y.H., Cao M.Q.: Spatial distribution of glomalin-related soil protein and its relationships with root mycorrhization, soil aggregates, carbohydrates, activity of protease and β -glucosidase in the rhizosphere of Citrus unshiu. *Soil Biol. Biochem.* **45**, 181–183 (2012)