

1. SUMMARY

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) of the phylum Glomeromycota form a symbiosis with 70–90% of vascular terrestrial plants. This symbiosis is of great interest to biologists and ecologists because AMF, among others, (i) regulate the carbon, nitrogen and phosphorus cycle, (ii) affect soil structure, productivity and diversity of plants and plant communities, and (iii) increase plant tolerance to heavy metals, soil salinity, water stresses, as well as pathogenic fungi and nematodes.

Of the described AMF species, ca. 21% were originally defined on the basis of spores originating from coastal dunes, and 46% of the others were associated with plants of such soils, indicating that dune soils (i) are particularly favorable for these fungi, (ii) the symbiosis of AMF with plants of these exceptionally difficult sites brings enormous benefits to the plants, AMF and soils of these sites, and (iii) coastal dune vegetation most certainly hosts numerous uncharacterized taxa of Glomeromycota. Therefore, attempts to further recognize these fungi are continued in the world in order to use them in the protection of plants and soils of dune sites, mainly by increasing the occurrence of the most functionally effective species. Among the indicators of such potential effectiveness, the frequency and abundance of sporulation of AGM present in a given site are considered very reliable.

One area where AMF was not explored prior to the research discussed in this PhD dissertation was the Mediterranean dunes of the Peloponnese Peninsula in Greece. In addition, the Plant Protection Laboratory grows pot cultures with AMF from numerous dune sites located in various regions of the world. Therefore, the aims of my own research were: (1) to characterize the morphological and molecular properties of AMF associated with dominant plant species of three coastal dune sites of the Peloponnese Peninsula, (2) to finally determine the systematic positions of *Acaulospora polonica*, *Entrophospora infrequens*, *Glomus diaphanum*, *G. drummondii*, *G. pansihalos*, *G. tortuosum*, and *G. walkeri* in Glomeromycota based on phylogenetic analyzes of sequences of the largest RNA polymerase II subunit (*RPB1*) gene and those covering the SSU-ITS-LSU nrDNA region plus *RPB1*, (3) to verify and supplement published diagnostic descriptions and systematic positions within Glomeromycota of AMF species based on: (i) phenotypic and histochemical features of spore components determined at different stages of their ontogenetic development, (ii) features of mycorrhizal structures, (iii) comparative studies of spore morphology and mycorrhizal structures, and (iv) phylogenetic analyzes of SSU-ITS-LSU nrDNA and *RPB1* sequences, using species collected during the implementation of the doctorate and live specimens from pot cultures established during earlier research by J. Błaszowski, the dissertation supervisor, and (4) to collect and analyze morphological and molecular data for diagnostic characteristics of new AMF species discovered in cultures with AMF from Peloponnese and those grown in the collection of the dissertation supervisor.

Marcela

The occurrence of AMF in the dunes of the Peloponnese was investigated based on spores extracted from 240 trap cultures. Of these, 104 were inoculated with a mixture of rhizosphere soil and root fragments of *Ammophila arenaria*, 45 represented *Eryngium maritimum*, 31 – *Euphorbia paralias*, 36 – *Medicago littoralis*, and 24 – *Medicago marina*. AMF spores were found in 238 cultures. The spores represented 38 species of 20 genera, 13 families, six orders of Glomeromycota. In addition, 18 morphotypes were identified that are likely undescribed taxa and require further study. The groups of species occurring very often (present in $\geq 60\%$ of cultures) and common (30–60%) included only *Septoglomus constrictum* (80.42%) and *Diversispora epigaea* (53.33%), respectively. The species most abundantly sporulating were: *Acaulospora kentinensis*, *Archaeospora trappei*, *Diversispora aurantia*, *D. epigaea*, *Dominikia aurea*, *Glomus macrocarpum*, *Innospora majewskii*, and *Rhizoglomus irregulare*.

Thus, the data presented above suggest that for the protection of plants and dunes of the Peloponnese it should be used an inoculum containing either only *Septoglomus constrictum*, or *S. constrictum* together with one or more of the most frequently occurring species in the area, i.e., *Acaulospora kentinensis*, *Archaeospora trappei*, *Diversispora aurantia*, *D. epigaea*, *Dominikia aurea*, *Glomus macrocarpum*, *Innospora majewskii*, and *Rhizoglomus irregulare*.

Based on analyzes of spores extracted from cultures grown in the Laboratory of Plant Protection, a new order, a new family, six new genera, 15 new species were described, and 13 new nomenclature combinations in Glomeromycota were created.

Keywords: Phylogenesis, Glomeromycota, Peloponez, Taxonomy, Dunes

Piotr Mierzwa

2. STRESZCZENIE

Arbuskularne grzyby mykoryzowe (AGM) z gromady Glomeromycota tworzą symbiozę z 70–90% naczyniowych roślin lądowych. Symbioza ta jest obiektem dużego zainteresowania biologów i ekologów, ponieważ AGM m.in. (i) regulują obieg węgla, azotu i fosforu, (ii) wpływają na strukturę gleby, produktywność i różnorodność roślin oraz zbiorowisk roślinnych i (iii) zwiększają tolerancję roślin na metale ciężkie, zasolenie gleby, stresi wodne oraz patogeniczne grzyby i nicienie.

Z opisanych gatunków AGM, ca. 21% zostało oryginalnie zdefiniowanych na podstawie zarodników pochodzących z wydm nadmorskich, a 46% innych wiązało się z roślinami takich gleb, co świadczy, że gleby wydymowe (i) szczególnie sprzyjają tym grzybom, (ii) symbioza AGM z roślinami tych wyjątkowo uciążliwych stanowisk przynosi olbrzymie korzyści dla roślin, AGM i gleb tych stanowisk oraz (iii) roślinność wydm nadmorskich z dużą pewnością utrzymuje liczne nie scharakteryzowane taksony gromady Glomeromycota. Dlatego w świecie kontynuowane są próby dalszego poznania tych grzybów w celu ich użycia w ochronie roślin i gleb stanowisk wydymowych, głównie przez zwiększenie występowania gatunków funkcjonalnie najbardziej efektywnych. Wśród wskaźników takiej potencjalnej efektywności za bardzo wiarygodne uznaje się częstość występowania i obfitość zarodnikowania AGM obecnych w określonym stanowisku.

Jednym z obszarów, w którym nie poznano AGM przed podjęciem badań omówionych w niniejszej dysertacji doktorskiej, były wydmy śródziemnomorskie Półwyspu Peloponez w Grecji. Ponadto w Pracowni Ochrony Roślin hodowane są kultury wazonowe z AGM pochodzącymi z licznych stanowisk wydymowych położonych w różnych regionach świata. Dlatego celami badań własnych były: (1) scharakteryzowanie własności morfologicznych i molekularnych AGM związanych z dominującymi gatunkami roślin trzech nadmorskich stanowisk wydymowych Półwyspu Peloponeskiego, (2) ostateczne określenie stanowisk systematycznych *Acaulospora polonica*, *Entrophospora infrequens*, *Glomus diaphanum*, *G. drummondii*, *G. pansihalos*, *G. tortuosum* i *G. walkeri* w Glomeromycota na podstawie analiz filogenetycznych sekwencji genu największej podjednostki polimerazy II RNA (RPB1) i sekwencji obejmujących region SSU-ITS-LSU nrDNA plus RPB1, (3) zweryfikowanie i uzupełnienie opublikowanych opisów diagnostycznych i stanowisk systematycznych wewnątrz Glomeromycota gatunków AGM na podstawie: (i) cech fenotypowych i histochemicznych składowych zarodników określonych w różnych stadiach ich rozwoju ontogenetycznego, (ii) cech struktur mykoryzowych, (iii) badań porównawczych morfologii zarodników i struktur mykoryzowych oraz (iv) analiz filogenetycznych sekwencji SSU-ITS-LSU nrDNA i RPB1, wykorzystując gatunki zebrane podczas realizacji doktoratu i żywe okazy z kultur wazonowych utworzonych w czasie wcześniejszych badań J. Błaszczkowskiego, promotora rozprawy oraz (4) zebranie i przeanalizowanie danych morfologicznych i molekularnych do charakterystyk diagnostycznych nowych gatunków AGM odkrytych podczas badań

Miezyda

prowadzonych w czasie przygotowywania rozprawy doktorskiej i znajdujących się w zbiorach promotora rozprawy.

Występowanie AGM w wydmach Peloponezu zbadano na podstawie zarodników tych grzybów wyekstrahowanych z 240 kultur pułapkowych. Spośród nich 104 zostały zainokulowane mieszaniną gleby ryzosferowej i fragmentów korzeni *Ammophila arenaria*, 45 reprezentowało *Eryngium maritimum*, 31 – *Euphorbia paralias*, 36 – *Medicago littoralis* i 24 – *Medicago marina*. Zarodniki AGM znaleziono w 238 kulturach. Zarodniki te reprezentowały 38 gatunków z 20 rodzajów, 13 rodzin, sześciu rzędów gromady Glomeromycota. Ponadto zidentyfikowano 18 morfotypów, które prawdopodobnie są nieopisanymi taksonami i wymagają dalszych badań. W grupach gatunków występujących bardzo często (obecne w $\geq 60\%$ kultur) i często (30–60%) znalazły się tylko odpowiednio *Septoglomus constrictum* (80,42%) i *Diversispora epigaea* (53,33%). Gatunkami najobficiej zarodnikującymi były *Acaulospora kentinensis*, *Archaeospora trappei*, *Diversispora aurantia*, *D. epigaea*, *Dominikia aurea*, *Glomus macrocarpum*, *Innospora majewskii*, *Rhizoglomus irregulare*, *Septoglomus africanum* i *S. constrictum*.

A więc dane przedstawione wyżej sugerują, że do ochrony roślin i wydm Peloponezu należy wykorzystać inokulum zawierające wyłącznie *Septoglomus constrictum* lub *S. constrictum* wraz z jednym do kilku spośród następujących gatunków: *Acaulospora kentinensis*, *Archaeospora trappei*, *Diversispora aurantia*, *D. epigaea*, *Dominikia aurea*, *Glomus macrocarpum*, *Innospora majewskii* i *Rhizoglomus irregulare*.

Na podstawie analiz zarodników wyekstrahowanych z kultur hodowanych w Pracowni Ochrony Roślin opisano nowy rząd, nową rodzinę, sześć nowych rodzajów, 15 nowych gatunków i utworzono 13 nowych kombinacji nomenklaturowych w Glomeromycota.

Słowa kluczowe: Filogeneza, Glomeromycota, Peloponez, Taksonomia, Wydmy

Penta Mezopot