

# RAZISKAVE OBRATA IZVENKORENINSKEGA MICELIJA V GOZDNIH TLEH

## Research of turnover of extramatrical mycorrhizal mycelia in forest soil

**Ines Štraus\*, Hojka Kraigher**

Gozdarski inštitut Slovenije, Oddelek za gozdno fiziologijo in genetiko, Večna pot 2, 1000 Ljubljana

**Ključne besede: ektomikoriza, vrstne mrežice, izotopske analize, minirizotroni**

Keywords: Ectomycorrhiza, in-growth mesh bags, isotopic analyzes, minirhizotrons

Privzem hranil v borealnih gozdovih in gozdovih zmerne pasu je pogojen s simbiotskimi ektomikoriznimi glivami, ki s hifnim plaščem obdajajo drobne korenine dreves ter tvorijo izvenkoreninski micelij (angl. extramatrical mycelium - EMM) (Smith in Read 2008), ki prodira v okoliški substrat in v tleh ustvarja obsežno mrežo.

Ektomikoriza oz. EMM ima ključno vlogo pri ekoloških procesih, kot so privzem hranil iz tal (Harley 1989), kroženje dušika (N) (Hodge in Fitter 2010), kroženje ogljika (C) (Simard in sod. 1997), preperevanje mineralov (Landeweert in sod. 2001), tvorba organske snovi tal (Ekblad in sod. 2013), ukoreninjanje in preživetje sadik (Smith in Read 2008) in spreminjanje sestave koreninskih združb (Van Der Heijden in sod. 1998).

Ocene količin ogljika v gozdnih tleh se gibljejo med 25 % in 63 % bruto primarne produkcije glede na global-

ni nivo (Litton in sod. 2007) in lahko imajo velik vpliv na fizikalne, kemične in biološke lastnosti tal. Razporeditev talnega ogljika povezuje dogajanje v krošnjah dreves z aktivnostmi, ki potekajo v gozdnih tleh in zagotavlja tok organskega ogljika od poganjkov do tal preko drobnih korenin in mikoriznih hif (Ekblad in sod. 2013). Pot, po kateri organski ogljik vstopa v tla, je kompleksna, velik delež ogljika se izgubi z dihanjem, manjši delež pa se veže v organsko snov tal (Janssens in sod. 2001).

Za raziskovanje obrata EMM so v svetu trenutno v uporabi nekatere metode, katerih prednosti in slabosti so predstavljene v Preglednici 1. Glede na razpoložljivo raziskovalno opremo in cilj raziskave izberemo tisto, ki nam najbolj ustreza. Na Gozdarskem inštitutu Slovenije smo za raziskovanje obrata EMM v tleh uporabili metodo z vrstnimi mrežicami, ki je v nadaljevanju podrobno opisana.

### **Preglednica 1: Prednosti in slabosti metod za raziskovanje obrata (EMM) (povzeto po Wallander in sod., 2013)**

Obrat EMM	Prednosti	Slabosti
Minirizotroni	Sledenje pojava (rojstvo) in izginotja (smrt) hif	Natančnost podatkov je pogojena s pogostostjo snemanja in velikostjo (opaznostjo) hif oz. rizomorfov Omejen čas raziskav
Micelijske vrstne mrežice	V območjih, kjer je produkcija EMM hitra, lahko s sekvenčnim vzorčenjem zajamemo celoten obrat EMM	Zamuda v kolonizaciji vrstnih mrežic je lahko prevelika, kar vpliva na zanesljivost podatkov Obrat EMM je lahko v pesku različen kot v tleh
Izotopske tehnike	Omogoča pulzno označevanje vzdolž rastline Vrstne mrežice, napolnjene s substratom C4, se lahko uporabljajo za meritve vnosa ogljika	Analize razsutega glivnega materiala lahko napačno pokažejo hiter obrat EMM. Težavo odpravimo z analizo izotopov v strukturnih komponentah. Metoda z uporabo C4 materiala ni najbolj natančna, za zanesljive rezultate so potrebni veliki vnosi C.

Za raziskovanje EMM v tleh uporabljamo mrežico z odprtini velikostnega razreda pod 50  $\mu\text{m}$ . Na ta način preprečimo rast drobnih korenin v mrežico. Mrežice so lahko v obliki žepkov, ki jih vodoravno namestimo v tla na različnih globinah ali cevi, ki jih namestimo navpično v tla in omogočajo gradientno spremljanje rasti EMM v tleh. Navadno mrežice vstavljamo na meji med mineralnim in organskim horizontom tal, ker so mikorizne glive na tem predelu najbolj številne (Lindahl in sod. 2007). Kot substrat za polnjenje mrežic lahko uporabimo presejan naravni substrat, s kislino očiščen kremenčev pesek ali organski material C4 rastlin. Glede na hitrost rasti ločimo hitro in počasi rastoče vrste mikoriznih gliv in čas inkubacije mrežic v tleh prilagodimo glede na to, katere vrste želimo vzorčiti. Za izračun letne neto produkcije ostanejo mrežice v tleh izpostavljene eno leto (Wallander in sod. 2013). Po vzorčenju na terenu mrežice shranimo v plastične vrečke in v čim krajšem času pripeljemo do laboratorija, kjer jih zamrznemo na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Količino micelija ocenimo s pomočjo lupe po naslednji lestvici (vizualna ocena): (0) micelij ni prisoten, (1) prisotne so posamezne hife, (2) prisotna je majhna količina micelija, (3) micelij splošno prisoten, skupkov peska ni, (4) veliko micelija in posamezni skupki peska, (5) veliko micelija in večji del peska v skupkih. Za natančno oceno biomase micelija je potrebno hife ločiti od peska, kar lahko naredimo na dva načina: s pobiranjem hif iz peska, pomešanega z vodo ali s precejanjem vode, v kateri je pesek s hifami. Hife prenesemo v stehane tehtiče, ki jih za 24 h postavimo v sterilizator oz. pečico, nastavljen(o) na  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da se hife posušijo, nato jih stehamo. Ker se pri ločevanju hif od peska vedno nekaj peska še vedno drži hif, na ta način še ne dobimo prave mase. Zato hife po sušenju preko noči žgemo v pečici pri  $600\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter potem stehamo preostanek (Wallander in sod. 2004). Raziskovanje zaloga EMM v tleh in vstopanje biomase vanje, ne da bi pri tem zajeli tudi drobne mikorizne in nemikorizne korenine, je velik izziv. Nekateri raziskovalci (Wallander in sod. 2004) menijo, da je potrebno vnos biomase v EMM zaloge s pomočjo drobnih mikoriznih in nemikoriznih korenin obravnavati skupaj, zato bo v prihodnje potrebno metodologijo, s katero preučujemo EMM v tleh, še bolje razviti in dodelati.

Raziskavo in razvoj metod so financirali projekti in program ARRS: L4-2265, L4-4318 (MKO), projekt MR (IŠ), raziskovalni program P4-0107 in projekt 7OP ET Capacities Regpot št. 315982: EUFORINNO.

## Viri:

- Ekblad A., Wallander, H., Godbold, D. L., Cruz, C., Johnson, D., Baldrian, P., Björk, R. G., Epron, D., Kieliszewska-Rokicka, B., Kjeller, R., Kraigher, H., Matzner, E., Neumann, J., Plassard, C. 2013. The production and turnover of extramatrical mycelium of ectomycorrhizal fungi in forest soils: role in carbon cycling. *Plant and Soil*, 366, 1-2: 1-27.
- Harley J. L. 1989. The significance of mycorrhiza. *Mycological Research*, 92, 2: 129-139.
- Hodge A., Fitter, A. H. 2010. Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling. *Proc Natl Acad Sci USA* 107, 31:13754-13759.
- Janssens I. A., Lankreijer, H., Matteucci, G., Kowalski, A. S., Buchmann, N., Epron, D., Pilegaard, K., Kutsch, W., Longdoz, B., Grünwald, T., Montagnani, L., Dore, S., Rebmann, C., Moors, E. J., Grelle, A., Rannik, Ü., Morgenstern, K., Oltchev, S., Clement, R., Guðmundsson, J., Minerbi, S., Berbigier, P., Ibrom, A., Moncrieff, J., Aubinet, M., Bernhofer, C., Jensen, N. O., Vesala, T., Granier, A., Schulze, E. D., Lindroth, A., Dolman, A. J., Jarvis, P. G., Ceulemans, R., Valentini, R. 2001. Productivity overshadows temperature in determining soil and ecosystem respiration across European forests. *Global Change Biology*, 7, 3: 269-278.
- Landeweert R., Hoffland, E., Finlay, R. D., Kuyper, T. W., Van Breemen, N. 2001. Linking plants to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends in Ecology & Evolution*, 16, 5: 248-254.
- Lindahl B. D., Ihrmark, K., Boberg, J., Trumbore, S. E., Höglberg, P., Stenlid, J., Finlay, R. D. 2007. Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytologist*, 173, 3: 611-620.
- Litton C. M., Raich, J. W., Ryan, M. G. 2007. Carbon allocation in forest ecosystems. *Global Change Biology*, 13, 10: 2089-2109.
- Simard S. W., Perry, D. A., Jones, M. D., Myrold, D. D., Durall, D. M., Molina, R. 1997. Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature*, 388, 6642: 579-582.
- Smith S. E., Read, D. J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. Third edition. Elsevier, Academic Press, 1-3, 189-385.
- Van Der Heijden M. G. A., Klironomos, J. N., Ursic, M., Moutoglou, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I. R. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396, 6706: 69-72.
- Wallander H., Ekblad, A., Godbold, D. L., Johnson, D., Bahr, A., Baldrian, P., Björk, R. G., Kieliszewska-Rokicka, B., Kjeller, R., Kraigher, H., Plassard, C., Rudawska, M. 2013. Evaluation of methods to estimate production, biomass and turnover of ectomycorrhizal mycelium in forest soils – A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 57, 0: 1034-1047.
- Wallander H., Göransson, H., Rosengren, U. 2004. Production, standing biomass and natural abundance of  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  in ectomycorrhizal mycelia collected at different soil depths in two forest types. *Oecologia*, 139, 1: 89-97.