

Mikoryza wezikularno-arbuskularna u roślin rozmnażanych in vitro

Bożena Matysiak

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa

ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice

e-mail: bmatys@insad.isk.skierniewice.pl, tel: +46 833 20 41

Słowa kluczowe: aklimatyzacja, endomikoryza, mikrorozmnażanie roślin,
stres

Wstęp

Mikrorozmnażanie stało się w ciągu ostatnich 30 lat podstawową metodą rozmnażania wielu roślin ogrodniczych. Szacuje się, że roczna produkcja roślin in vitro w Europie wynosi 220 milionów sztuk i na podobnym poziomie kształtuje się produkcja w Ameryce Północnej i krajach Dalekiego Wschodu [24, 25]. Największy udział w tej produkcji stanowią rośliny ozdobne (lilia, gerbera, rośliny doniczkowe, storczyki, różaneczniki) oraz krzewy jagodowe (truskawki), chociaż ważną pozycję zajmują również podkładki drzew owocowych (wiśnie) oraz rośliny tropikalne (cytrusy). Zdecydowana większość gatunków masowo rozmnażanych metodą in vitro, w warunkach naturalnych tworzy mutualistyczny związek z grzybami, najczęściej endomikoryzę (mikoryzę wezikularno-arbuskularną VAM), gatunki należące do rodzaju *Ericales* (różanecznik, kalmia) tworzą endomikoryzę *Ericales*, storczyki — mikoryzę *Orchidaceae*, a tylko nieliczne ektomikoryzę (*Betula*, *Picea*, *Juglans*). Grzyby tworzące mikoryzę wezikularno-arbuskularną należą do klasy *Zygomycetes* — rodzaje *Glomus*, *Sclerocytis*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* i *Scutellospora* [26]. W warunkach naturalnych grzyby te są integralnie związane z roślinami, umożliwiają im odpowiedni wzrost i rozwój. Wprowadzenie grzybów tworzących VAM do uprawy roślin ogrodniczych stymuluje wzrost rośliny-gospodarza poprzez lepsze zaopatrzenie w składniki pokarmowe, takie jak fosfor, azot i mikroelementy. Takie rośliny charakteryzują się bardziej wyrównanym wzrostem, wyższa jest odporność na pato-

geny glebowe, stres związany z deficytem wody i toksycznym wpływem metali ciężkich w podłożu oraz lepiej przyjmują się po przesadzeniu do gruntu [29, 26]. Wprowadzenie grzybów tworzących mikoryzę VAM otwiera nowe perspektywy w produkcji wysokiej jakości roślin rozmnażanych *in vitro* przy niższych nakładach na środki chemiczne [30]. Celem pracy jest przedstawienie korzyści, jakie może dawać mikoryza VAM w produkcji roślin metodą *in vitro*.

Znaczenie endomikoryz dla roślin rozmnażanych *in vitro*

Jednym z najtrudniejszych etapów mikrorozmnażania jest aklimatyzacja mikrosadzonek do warunków szklarniowych. Wysoka śmiertelność roślin często towarzyszy mikrorozmnażaniu po przeniesieniu sadzonek do warunków *ex vitro*, co wynika z ich małej aktywności fotosyntetycznej, nadmiernej transpiracji oraz ograniczonej zdolności do pobierania składników pokarmowych [33, 36]. Wiele badań przeprowadzono w celu zwiększenia przeżywalności mikrosadzonek i przyspieszenia ich wzrostu po wyjęciu „ze szkła”. Dane te dotyczą głównie optymalizacji czynników klimatycznych w szklarni podczas aklimatyzacji roślin: natężenia światła, stężenia dwutlenku węgla, temperatury, jak również rodzaju podłoża i właściwego zaopatrzenia w składniki pokarmowe [33].

Tabela 1. Przykłady korzystnego zastosowania grzybów VAM w produkcji roślin metodą *in vitro*

Roślina	Autor
Jabłoń	Branzanti i in. 1992; Sbrana i in. 1994; Gribaudo i in. 1996
Grusza	Rapparini i in. 1994
Śliwa	Fortuna i in. 1992
Brzoskwinia	Rapparini i in. 1994
Wiśnia, podkładki	Pons i in. 1983; Eustaún i in. 1994; Berta i in. 1995
Winogrono	Schubert i in. 1990; Schellenbaum i in. 1991; Lovato i in. 1992
Truskawka	Niemi i Vestberg 1992; Vestberg 1992; Williams i in. 1992; Varma i Schüepp 1994
Malina	Varma i Schüepp 1994
Awokado	Azcón-Aguilar i in. 1992; Vidal i in. 1992
Ananas	Guillemin i in. 1992; Lovato i in. 1992
Bambus	Verma i Arya 1998
Pistacja	Schubert i Martinelli 1988
Maniok	Azcón-Aguilar i in. 1997
Kiwi	Schubert i in. 1992; Gribaudo i in. 1996
Pigwa	Calvet i in. 1995
Palma olejowa	Blal i in. 1992
Kawa	Vaast i in. 1996
Gerbera	Wang i in. 1993
Hortensja	Varma i Schüepp 1994
Rośliny doniczkowe ozdobne z liści	Wang i in. 1993; Gaur i Adholeya 1999

Biologiczną metodą zmniejszenia stresu roślin podczas aklimatyzacji i przyspieszenia ich wzrostu *ex vitro* może być inokulacja mikrosadzonek grzybami VAM [3, 10, 30, 45]. Korzystny wpływ mikoryzacji mikrosadzonek uzyskano dla wielu gatunków roślin ogrodniczych (tab. 1). Szerokie spektrum gatunków odzwierciedla potencjalne możliwości wykorzystania grzybów VAM w produkcji roślin metodą kultur tkankowych.

Produkcja regulatorów wzrostu

Inokulacja korzeni poprzez grzyby VAM stymuluje zarówno wzrost korzeni, jak i części nadziemnej mikrosadzonek, przy czym stosunek masy korzeni do masy pędów ulega zmniejszeniu, co wskazuje na wyższą efektywność produkcji biomasy [9, 22, 44, 49]. Zmienia się również budowa morfologiczna korzeni mikrosadzonek, powstaje większa liczba korzeni bocznych [5, 40], czego efektem jest zwiększona powierzchnia absorpcyjna wokół strefy korzeniowej, umożliwiającą lepsze pobieranie składników pokarmowych. Już sama obecność grzybów VAM w podłożu sprzyjała korzenieniu się mikrosadzonek tytoniu *ex vitro* [45], co sugeruje, że grzyby te mogłyby zastępować egzogennie stosowane auksyny.

Kolonizacja mikrosadzonek roślin drzewiastych: *Malus pumila*, *Prunus amygdalus* i *Prunus persica* poprzez grzyby VAM zabezpiecza wierzchołki pędów przed utratą ich aktywności po wyjęciu „ze szkła” [5, 17, 39], przez co czas produkcji sadzonek może być znacznie skrócony. Wykazano również, że inokulacja mikrosadzonek róż grzybami VAM stymuluje rozwój pędów bocznych, dzięki czemu rośliny są lepiej rozkrzewione i mają więcej kwiatów [19]. Podobne wyniki uzyskali Budi i in. [10]. Inokulowane grzybami VAM mikrosadzonki lawendy były wyższe i bardziej rozkrzewione w porównaniu z roślinami kontrolnymi, bez ustanowionej symbiozy. Możliwość skrócenia czasu potrzebnego do zakwitania roślin po wprowadzeniu grzybów VAM została po raz pierwszy wykorzystana w Japonii w produkcji chryzantem i cyklamenów [12].

Inną ważną dla produkcji korzyścią inokulacji mikrosadzonek grzybami VAM jest możliwość uzyskania bardziej wyrównanego materiału roślinnego. Branzanti i in. [9] wykazali, że zmienność mikrosadzonek jabłoni we wzroście jest znacznie mniejsza u roślin z ustanowioną mikoryzą.

Z pracy Varma i Schüepp [46] wynika, że inokulacja mikrosadzonek truskawki grzybami VAM stymuluje powstawanie pędów rozłogowych, co może być wynikiem zmian w ilości syntetyzowanych cytokinin oraz ich transporcie w roślinach. Mikoryzacja mikrosadzonek truskawki wydaje się być wartościową metodą produkcji zdrowego materiału do zakładania mateczników.

Z opublikowanej w 1999 roku pracy Besmer i Koide [6] wynika, że grzyby VAM hamują wydzielanie etylenu przez rośliny. Trwałość pędów kwiatostanowych lwiej paszczy była większa, gdy były one ścięte z roślin z ustanowioną mikoryzą i związane

to było ze zmniejszonym wydzielaniem etylenu. Wyniki te są bardzo obiecujące, ponieważ otwierają zupełnie nowe możliwości przedłużania trwałości kwiatów ciętych bez konieczności stosowania toksycznych inhibitorów syntezy etylenu (tiosiarczan srebra).

Mineralne odżywianie roślin

Najlepiej udokumentowaną korzyścią symbiozy wezikularno-arbuskularnej jest zwiększone pobieranie składników pokarmowych przez roślinę-gospodarza [31], co jest wynikiem zwiększenia strefy penetracji podłoża przez grzybnię zewnętrzną oraz zmiany w budowie morfologicznej korzeni. Takie wysokoefektywne organy podziemne ułatwiają pobieranie przede wszystkim fosforu, ale również azotu, potasu, miedzi i cynku, nawet przy ich niskiej dostępności dla rośliny. Stymulację wzrostu oraz lepsze zaopatrzenie mikrosadzonek w składniki pokarmowe uzyskano w wypadku wielu roślin rozmnożonych *in vitro* [7, 18, 20, 44, 49]. Przy jednakowej zawartości fosforu w podłożu, mikrosadzonki palmy olejowej *Elaeis guineensis* inokulowane grzybami VAM pobrały czterokrotnie więcej tego pierwiastka niż rośliny bez ustanowionej mikoryzy [7]. Kolonizacja korzeni przez grzyby VAM ułatwia pobieranie fosforu przez mikrosadzonki zarówno w fazie aklimatyzacji, jak również w czasie ich dalszej uprawy, co wykazano na przykładzie *Syngonium* i *Draceana* [18]. Nawozy o spowolnionym działaniu cieszą się od lat szczególnym zainteresowaniem w produkcji roślin ogrodniczych. Badania prowadzone przez Williamsa i in. [51] wykazały, że poprzez wprowadzenie grzybów VAM i ustanowienie symbiozy mikoryzowej dawki tych nawozów mogą być znacznie zmniejszone, przy jednoczesnym utrzymaniu wysokiego poziomu produkcji.

Kolonizację mikrosadzonek przez grzyby VAM hamuje wysoka dostępność fosforu w glebie oraz wysoka zawartość tego pierwiastka w roślinie, chociaż tolerancja poszczególnych gatunków grzybów VAM na wysoką zawartość fosforu może się znacznie różnić [44]. Zwiększanie zawartości fosforu w glebie hamowało kolonizację mikrosadzonek *Coffea arabica* przez grzyb *Acaulospora mellea*, natomiast przyspieszało kolonizację korzeni przez *Glomus clarum* [46].

Biologiczna ochrona przed patogenami

Jedną z ważniejszych funkcji, jaką pełnią grzyby VAM w środowisku naturalnym, jest biologiczna ochrona roślin przed patogenami glebowymi [46]. Inokulacja korzeni przez grzyby VAM może zmniejszać podatność lub zwiększać tolerancję na patogeny glebowe oraz nicienie, jak również sprzyjać kolonizacji przez inne symbiotyczne mikroorganizmy. Na mikrosadzonkach palmy olejowej inokulowanych grzybami VAM i uprawianych w podłożu zakażonym *Fusarium oxysporum* nie obserwowano charakterystycznych nekrotycznych przebarwień pędów, które występowały na roślinach bez ustanowionej symbiozy [30]. Grzyby mikoryzowe wzmacniały również odporność

mikrosadzonek ananasa [23] i czereśni ptasiej [13] na grzyby patogeniczne z rodzaju *Phytophthora cinnamomi*, co wskazuje na możliwość ich stosowania jako czynnika biologicznej ochrony przed patogenami.

Inną grupą organizmów, które mogą powodować duże szkody po wyjęciu mikrosadzonek „ze szkła”, są nicienie. Nicienie silnie ograniczały wzrost mikrosadzonek pigwy (podkładka dla grusz) w podłożu nieinokulowanym grzybami VAM, ale nie wyrządzały szkód u roślin z mikoryzą, nawet gdy nicienie były wprowadzane w tym samym czasie co grzyby VAM [11]. Wykazano ponadto, że już sama kolonizacja korzeni przez grzyby VAM zmniejszała jego zasiedlanie przez nicienie. Dane te sugerują, że kolonizacja korzeni przez grzyby VAM indukuje specyficzny rodzaj mechanizmu odpornościowego. Mechanizmy zwiększonej odporności roślin mikoryzowych na patogeny glebowe nie są do końca poznane. Oprócz poprawy zaopatrzenia roślin w składniki mineralne, współzawodnictwo z patogenami o produkty fotosyntezy, zmiany anatomiczne i morfologiczne systemu korzeniowego indukowane przez grzyby VAM, zmiany mikrobiologiczne w rizoferze, coraz większą rolę przypisuje się lokalnej aktywacji specyficznego mechanizmu odporności [2, 13].

Praktyczne aspekty zastosowania grzybów VAM w produkcji roślin metodą *in vitro*

Istnieją trzy terminy podczas mikrorozmnażania możliwe do wprowadzenia grzybów VAM: I — w czasie ukorzeniania mikrosadzonek *in vitro*, II — bezpośrednio po wyjęciu mikrosadzonek „ze szkła” — na początku okresu aklimatyzacji *ex vitro* oraz III — po zaadaptowaniu do warunków *ex vitro* podczas przesadzania mikrosadzonek do pojemników [3].

Pomimo iż możliwe jest uzyskanie symbiotycznego związku pomiędzy grzybami VAM a roślinami w warunkach *in vitro* [14], to jednak czasochłonne przygotowanie sterylne inokulum oraz przedłużenie fazy wzrostu „w szkle” powodują, że ekonomiczne korzyści z takiej procedury są kwestionowane. Ravolanirina i in. [38] wykazała, że poprawa wzrostu winogron w obecności grzybów mikoryzowych była większa, gdy inokulacja przeprowadzana była we wczesnej fazie aklimatyzacji niż podczas ukorzeniania *in vitro*, nawet gdy poziom infekcji był podobny. Dalsze badania [9, 38] wykazały, że najlepsze efekty we wzroście roślin uzyskano wtedy, gdy podczas inokulacji grzybami VAM mikrosadzonki miały dwa widoczne zawiązki korzeni.

Procedura wprowadzania grzybów VAM zakłada przesadzanie mikrosadzonek do pojemników wypełnionych mikoryzowym inokulum wymieszanym z substratem. Pięć gramów świeżo pociętych, dobrze skolonizowanych przez grzyby VAM korzeni jest wystarczające do osiągnięcia wysokiego poziomu infekcji przez 25 do 50 roślin. Innym typem inokulum może być podłoże zawierające grzybnię i zarodniki grzybów

VAM. Zastosowanie takiego inokulum w ilości 1% (v/v) było wystarczające do poprawy wzrostu mikrosadzonek winogron i ananasów [28]. Pozostałe warunki uprawy mikrosadzonek nie muszą być zmienione, mikrosadzonki powinny być sadzone do zamglawianych tuneli, a po 2 do 4 tygodni przesadza się je do pojemników bez dodatkowego wprowadzania grzybów VAM.

Dobrej kolonizacji korzeni przez grzyby VAM sprzyja dodatek piasku lub gliny do podłoża torfowych. Azcón-Aguilar i in. [1] najlepsze efekty we wzroście sadzonek awokado uzyskali w podłożu torfowym zmieszonym z glebą piaszczystą (1 : 1). Z kolei Schubert i in. [43] uzyskali dobry wzrost mikrosadzonek kiwi po dodaniu tylko 5% gleby piaszczystej do mieszanki torfu z perlitem, a poprawę wzrostu winogron i ananasów uzyskano w podłożu zawierającym 20% piasku gliniastego [28].

Poszczególne gatunki grzybów tworzących mikoryzę wezikularno-arbuskularną, a nawet ich izolaty, mogą z różną efektywnością wpływać na wzrost gatunków i odmian roślin uprawnych [1, 16, 22, 28]. Najlepszym rozwiązaniem wydaje się być stosowanie mieszanki izolatów, tzw. koktajlu, w którym każdy izolat dobrze adaptuje się do specyficznych warunków środowiska oraz jest najbardziej efektywny dla danej rośliny. Istnieje jednak możliwość, że w określonych warunkach mniej efektywny szczep grzyba VAM, wchodzący w skład „koktajlu”, może być bardziej konkurencyjny w kolonizacji rośliny-gospodarza. To stwarza pewne ograniczenie szerokiego zastosowania w produkcji istniejących szczepionek mikoryzowych. Gotowe mieszanki podłożowe zawierające grzyby VAM mogą być wykorzystywane w produkcji wielu roślin, ale nie gwarantują maksymalnych korzyści, jakie daje mikoryza we wszystkich sytuacjach. Biorąc pod uwagę złożoność układu roślina – grzyb – gleba, aby wynieść korzyści z praktycznego stosowania inokulum mikoryzowego w uprawie różnych gatunków roślin w różnych warunkach, należy zależności te jeszcze dokładniej poznać.

Konkluzje

Wzrasta liczba dowodów na to, iż kolonizacja mikrosadzonek przez grzyby VAM poprawia ich żywotność i zdrowotność, sadzonki lepiej tolerują stres po wyjęciu ich „ze szkła”, a ich wzrost jest bardziej intensywny. Technika mikoryzacji może być stosowana do szerokiego spektrum roślin produkowanych masowo *in vitro*. Pozytywne efekty mikoryzacji sadzonek pochodzących z rozmnożenia *in vitro* uzyskano również z grzybami tworzącymi ektomikoryzę [32] oraz mikoryzę erikoidalną [27].

Literatura

- [1] Azcón-Aguilar C., Barceló A., Vidal M.T., de la Viña G. 1992. Further studies on the influence of mycorrhizae on growth and development of micropropagated avocado plants. *Agronomie* 12: 837–840.
- [2] Azcón-Aguilar C., Barea J.M. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens — an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6: 457–464.
- [3] Azcón-Aguilar C., Barea J.M. 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Hortic.* 68: 1–24.
- [4] Azcón-Aguilar C., Cantos M., Troncoso A., Barea J.M. 1997. Beneficial effect of arbuscular mycorrhizas on acclimatization of micropropagated cassava plantlets. *Scientia Hortic.* 72: 63–71.
- [5] Berta G., Trotta A., Fusconi A., Hooker J.E., Munro M., Atkinson D., Giovannetti M., Morini M., Fortuna P., Tisserant B., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 1995. Arbuscular mycorrhizal induced changes to plant growth and root system morphology in *Prunus cerasifera*. *Tree Physiol.* 15: 281–293.
- [6] Besmer Y.L., Koide R.T. 1999. Effect of mycorrhizal colonization and phosphorus on ethylene production by snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) flowers. *Mycorrhiza* 9: 161–166.
- [7] Blal B., Morel C., Gianinazzi-Pearson V., Fardeau J.C. 1992. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on phosphate efficiency in two tropical acid soils planted with micropropagated oil palm (*Elaeis guineensis* J.). *Biol Fertil Soils* 1: 43–48.
- [8] Branzanti B., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Beraldi R. 1991. Influence of artificial substrate on mycorrhization of micropropagated fruit trees in a horticultural system. W: Mycorrhizas in ecosystems. Alexander I.J., Fitter A.H., Lewis D.H., Read D.J. (eds). 1991. CAB Oxford: 333–339.
- [9] Branzanti A.B., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 1992. Influence of phosphate fertilization on the growth and nutrient status of micropropagated apple infected with endomycorrhizal fungi during the weaning stage. *Agronomie* 12: 841–845.
- [10] Budi W., Cordier Ch., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Lemoine M.C., Blal B. 1998. Arbuscular mycorrhiza as a way of promoting sustainable growth of micropropagated plants. *Acta Hortic.* 457: 71–77.
- [11] Calvet C., Pinochet J., Camprubi A., Fernandez C. 1995. Increased tolerance to the root lesion nematode *Pratylenchus vulnus* in mycorrhizal micropropagated BA-29 quince rootstock. *Mycorrhiza* 5: 253–258.
- [12] Cargeeg R.D.P. 1991. VA-mycorrhiza inoculant for horticultural crops. AGC Research Product Data Sheet.
- [13] Cordier C., Trouvelot A., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. 1996. Arbuscular mycorrhiza technology applied to micropropagation *Prunus avium* and to protection against *Phytophthora cinnamomi*. *Agronomie* 16: 679–688.
- [14] Douds Jr. D.D. 1997. A procedure for the establishment of *Glomus mosseae* in dual culture with Ri T-DNA-transformed carrot roots. *Mycorrhiza* 7: 57–61.

- [15] Eustaín V., Calvet C., Camprubi A. 1994. Arbuscular mycorrhizae and growth enhancement of micropropagated *Prunus* rootstock in different soilless potting mixes. *Agric. Sci. Finl.* 3: 263–267.
- [16] Fortuna P., Citernes S., Giovannetti M., Loreti F. 1992. Infectivity and effectiveness of different species of arbuscular mycorrhizal fungi in micropropagated plants of Mr S 2/5 plum rootstock. *Agronomie* 12: 825–829.
- [17] Fortuna P., Morini S., Giovannetti M. 1998. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on in vivo root initiation and development of micropropagated plum shoots. *Mycorrhiza* 2: 19–28.
- [18] Gaur A., Adholeya A. 1999. Mycorrhizal effects on the acclimatization, survival, growth and chlorophyll of micropropagated *Syngonium* and *Draceana* inoculated at weaning and hardening stages. *Mycorrhiza* 9: 215–219.
- [19] Gianinazzi S., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson V. 1990. Role and use of mycorrhizas in horticultural crop production. XXIII Int. Hort. Congress, Florencia: 25–30.
- [20] Granger R.L., Plenchette L., Fortin J.A. 1983. Effect of vesicular arbuscular (VA) endomycorrhizal fungus (*Glomus epigaeum*) on the growth and leaf mineral content of two apple clones propagated in vitro. *Can. J. Plant Sci.* 63: 551–555.
- [21] Gribaudo I., Zanetti R., Morte M.A., Previati A., Schubert A. 1996. Development of mycorrhizal infection in vitro and in vivo-formed roots of woody fruit plants. *Agronomie* 16: 621–624.
- [22] Guillemain J.P., Gianinazzi S., Trouvelot A. 1992. Screening of VA endomycorrhizal fungi for establishment of micropropagated pineapple plants. *Agronomie* 12: 831–836.
- [23] Guillemain J.P., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V., Marschal J. 1994. Contribution of arbuscular mycorrhizas to biological protection of micropropagated pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) against *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Agric. Sci. Finl.* 3: 241–251.
- [24] Hartman 1999. Commercial micropropagation in The United States, 1965–1998. W: Plant Biotechnology in the 21st century. Altman (ed). Kluwer Academic Publishers: 699–707.
- [25] Holgate D.P., Zandvoort E.A. 1999. Securing cost effective product quality, an essential for sustainable business w Plant Biotechnology and in vitro biology in the 21st century. W: Plant Biotechnology in the 21st century. Altman (ed). Kluwer Academic Publishers: 709–712.
- [26] Kobus J., Książniak A. 1997. Mikoryza wezikularno-arbuskularna roślin zielnych. *Post. Nauk Rol.* 5: 73–90.
- [27] Lemoine M.C., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. 1992. Application of endomycorrhizae to commercial production of *Rhododendron microplants*. *Agronomie* 12: 881–885.
- [28] Lovato P., Guillemain J.P., Gianinazzi S. 1992. Application of commercial arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. *Agronomie* 12: 837–880.
- [29] Lovato P.E., Schüepp H., Trouvelot A., Gianinazzi S. 1995. Application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in orchard and ornamental plants. W: Mycorrhiza — structure, function, molecular biology and biotechnology. Varma, Hock (eds) Springer Verlag: 443–467.
- [30] Lovato P.E., Gianinazzi-Pearson V., Trouvelot T., Gianinazzi S. 1996. The state of mycorrhizas and micropropagation. *Adv. Hort. Sci.* 10: 46–52.

- [31] Marschner H. 1995. The soil – root interface (rhizosphere) in relation to mineral nutrition. W: Mineral nutrition of higher plants. Academic Press London: 537–595.
- [32] Martins A., Barroso J., Pais M.S. 1996. Effect of ectomycorrhizal fungi on survival and growth of micropropagated plants and seedlings of *Castanea sativa* Mill. *Mycorrhiza* 6: 265–270.
- [33] Matysiak B. 1996. Wpływ czynników środowiskowych na aklimatyzację i wzrost roślin z rodziny obrazkowatych mnożonych metodą *in vitro*. Praca doktorska: 91 ss. ISK, Skierniewice.
- [34] Niemi M., Vestberg M. 1992. Inoculation of commercially grown strawberry with VA mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 144: 133–142.
- [35] Pons F., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Navatel J.C. 1983. Studies of VAM *in vitro*: mycorrhizal synthesis of axenically propagated wild cherry (*Prunus avium* L.) plants. *Plant and Soil* 71: 217–221.
- [36] Preece J.E., Sutter E.G. 1991. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. W: Micropropagation, Debergh, Zimmerman (eds). Kluwer Academic Publishers: 71–93.
- [37] Rapparini F., Baraldi R., Bertazza G., Branzanti B., Predieri S. 1994. Vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation of micropropagated fruit trees. *J. Hort. Sci.* 69: 1101–1109.
- [38] Ravolanirina F., Gianinazzi S., Trouvelot A., Carre M. 1989. Production of endomycorrhizal explants of micropropagated grapevine rootstocks. *Agric. Ecosyst. Environ.* 29: 323–327.
- [39] Sbrana C., Giovannetti M., Vitagliano C. 1994. The effect of mycorrhizal infection on survival and growth renewal of micropropagated fruit rootstocks. *Mycorrhiza* 5: 153–156.
- [40] Schellenbaum L., Berta G., Ravolanirina F., Tisserant B., Gianinazzi S., Fitter A.H. 1991. Influence of endomycorrhizal infection on root morphology in a micropropagated woody plant species (*Vitis vinifera* L.) *Ann. Bot.* 68: 135–141.
- [41] Schubert A., Martinelli A. 1988. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth of *in vitro* propagated *Pistacia integerrima*. *Acta Hort.* 227: 441–443.
- [42] Schubert A., Mazzitelli M., Ariusso O., Eynard I. 1990. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on micropropagated grapevines. Influence of endophyte strain, P fertilization and growth medium. *Vitis* 29: 5–13.
- [43] Schubert A., Bodrino C., Gribaudo I. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) micropropagated plants. *Agronomie* 12: 847–850.
- [44] Vaast Ph., Zasoski R.J., Bledsoe C.S. 1996. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation at different soil P availabilities on growth and nutrient uptake of *in vitro* propagated coffee (*Coffea arabica* L.) plants. *Mycorrhiza* 6: 493–497.
- [45] Varma A. 2000. A biological approach towards increasing the rates of survival of micropropagated plants. *Current Sci.* 78 (2): 126–129.
- [46] Varma A., Schüepp H. 1994. Infectivity and effectiveness of *Glomus intraradices* on micropropagated plants. *Mycorrhiza* 5: 29–37.
- [47] Verma R.K., Arya I.D. 1998. Effect of arbuscular mycorrhizal fungal isolates and organic manure on growth and mycorrhization of micropropagated *Dendrocalamus asper* plantlets and on spore production in their rhizosphere. *Mycorrhiza* 8: 113–116.

- [48] Vestberg M. 1992. Arbuscular mycorrhizal inoculation of micropropagated strawberry and field observation in Finland. *Agronomie* 12: 865–867.
- [49] Vidal M.T., Azcón-Aquilar C., Barea J.M., Pliego-Afaro F. 1992. Mycorrhizal inoculation enhances growth and development of micropropagated plants of avocado. *HortScience* 27: 785–787.
- [50] Wang H., Parent S., Gosselin A., Desjardins Y. 1993. Study of vesicular-arbuscular mycorrhizal peat-based substrates on symbioses establishment, acclimatization and growth of three micropropagated species. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 118: 896–901.
- [51] Williams S.C.K., Vestberg M., Uosukainen M., Dodd J.C., Jeffries P. 1992. Effect of fertilizer and arbuscular mycorrhizal fungi on the post-vitro growth of micropropagated strawberry. *Agronomie* 12: 851–857.

Vesicular-arbuscular mycorrhizas of micropropagated plants

Key words: acclimatisation, micropropagation, mycorrhizas plant, stress

Summary

Plant micropropagation has an outstanding position in biotechnology industry. Plant production through this technique can benefit from the utilisation of mycorrhiza, the mutualistic association between plant roots and fungi. A growing body of knowledge and experience is showing that it is possible to use the mycorrhizas in order to market healthy and strong microplants that are able to overcome stress caused by transferring from the „in vitro” to greenhouse conditions and assure the optimal growth, even under adverse production conditions. Mycorrhizal technology is not limited to plants forming vesicular-arbuscular mycorrhizas, but it can be also applied to the species forming ectomycorrhizas and ericoid endomycorrhizas.