

TOMASZ KUC, MARTA ALEKSANDROWICZ-TRZCIŃSKA

Wpływ fungicydów stosowanych w ochronie przed mączniakiem prawdziwym na wzrost i kolonizację mikoryzową hodowanych w kontenerach sadzonek dębu*

Effect of fungicides used in the protection against powdery mildew on growth and mycorrhizal colonization of container-grown oak seedlings

ABSTRACT

Kuc T., Aleksandrowicz-Trzcińska M. 2012. Wpływ fungicydów stosowanych w ochronie przed mączniakiem prawdziwym na wzrost i kolonizację mikoryzową hodowanych w kontenerach sadzonek dębu. Sylwan 156 (9): 672-683.

The aim of the study was to examine the level of mycorrhizal colonization and growth of one-year old pedunculate oak seedlings grown on three kinds of substrates, not-mycorrhized and mycorrhized with a vaccine containing the vegetative mycelium of *Hebeloma crustuliniforme* after three foliar applications of fungicides: Falcon 460 EC, Nimrod 250 EC and Siarkol Extra 80 WP.

KEY WORDS

fungicides, *Hebeloma crustuliniforme*, mycorrhiza, *Quercus robur*

ADDRESSES

Tomasz Kuc – e-mail: tomasz.kuc@radom.lasy.gov.pl

Marta Aleksandrowicz-Trzcińska – e-mail: marta_aleksandrowicz_trzcinska@sggw.pl

Katedra Ochrony Lasu i Ekologii; SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159; 02-776 Warszawa

Wstęp

Mączniak prawdziwy dębu, powodowany przez grzyb *Microsphaera alphitoides*, jest ważną z gospodarczego punktu widzenia chorobą, szczególnie dla drzew młodych [Sierota 1998; Duda i in. 2007]. Dęby w szkółkach leśnych są z dobrym skutkiem chronione chemicznie przed tą chorobą [Piwnicki, Duda 2000]. Stosowanie fungicydów może jednak niekorzystnie wpływać na tworzenie i funkcjonowanie związków mikoryzowych [Trappe i in. 1984]. Badania dotyczące tej problematyki podjęto już w połowie ubiegłego stulecia [Wilde, Persidsky 1954; Dominik 1961]. Dotychczas jednak nie przyniosły one jednoznacznej odpowiedzi na pytanie o to, czy i jaki wpływ mają fungicydy jako grupa środków na współżycie korzeni roślin wyższych z grzybami mikoryzowymi. Jest to spowodowane różnorodnością partnerów grzybowych (zarówno gatunków, jak i szczepów), zmiennym środowiskiem glebowym (fizycznie, chemicznie i mikrobiologicznie), różnorodnością substancji biologicznie czynnych fungicydów i różnymi mechanizmami ich działania, a także innymi czynnikami, takimi jak sposób i miejsce aplikacji, wiek i gatunek rośliny [Aleksandrowicz-Trzcińska 2002, 2007a].

* Badania zostały sfinansowane przez MNiSW w ramach projektu N 309 015 31/2245.

Stosowanie fungicydów powinno być poprzedzone poznaniem wpływu substancji czynnych w nich zawartych na gatunki grzybów mikoryzowych i tworzone przez nie układy symbiotyczne z korzeniami drzew leśnych. Jest to szczególnie istotne w sytuacji, kiedy konieczność zastosowania ochrony chemicznej dotyczy sadzonek poddanych zabiegowi sterowanej mikoryzacji.

Celem pracy była ocena wpływu fungicydów stosowanych w szkółkach leśnych w ochronie dębu przed mączniakiem prawdziwym na kolonizację mikoryzową i wzrost siewek dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) hodowanych w kontenerach.

Material i metody

Doświadczenie przeprowadzono na terenie Szkółkarskiego Ośrodka Szkoleniowego Leśnego Zakładu Doświadczalnego Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Rogowie. Do badań wykorzystano jednoroczne sadzonki dębu szypułkowego hodowane w namiocie foliowym, w kasetach V-370 (w kasecie 15 doniczek o pojemności 370 cm³ każda), na trzech rodzajach podłoża. Podłoże oznaczone w doświadczeniu literą G stanowił sterylizowany parą wodną, pochodzący z Estonii torf sfagnowy, charakteryzujący się niskim stopniem rozkładu (do 15%) i pH na poziomie 4,5. Do torfu dodano 30% wermikulitu, nawóz Osmocote typ Exact firmy Substrat w ilości 3,5 kg/m³ oraz szczepionkę mikoryzową opartą na grzybni wegetatywnej *Hebeloma crustuliniforme* w ilości 3% objętości substratu. Podłoże oznaczone literą C oparte było na torfie wysokim „ogrodniczym”, dystrybuowanym przez firmę Karaska z Łomianek. Torf ten charakteryzował się odczynem na poziomie 3,3-3,8 i nieznanym stopniem rozkładu (wzrokowo zdecydowanie większym niż torf sprowadzany z Estonii). Torf przed użyciem nie został poddany sterylizacji, natomiast odkwaszono go za pomocą tlenku wapnia do uzyskania pH około 4,5. Do torfu dodano perlit w stosunku 2:1, nawóz Osmocote Plus mini firmy Substrat w ilości 3 kg/m³. Podłoże oznaczone literą M różniło się od podłoża C dodatkami szczepionki mikoryzowej z *H. crustuliniforme* w ilości 6% objętości substratu.

Badaniom poddano trzy fungicydy (tab. 1), które zastosowano w następujących stężeniach: Falcon – 0,25%, Nimrod – 0,1%, Siarkol – 0,6%. Wykonano 4 zabiegi w sezonie wegetacyjnym, w każdym zużywano 1000 l cieczy roboczej/ha dla każdego ze środków. Pierwszy zabieg wykonano na rozwinięte pierwsze liście dębów, drugi w odstępie dwóch tygodni, a kolejne w odstępach trzytygodniowych.

Doświadczenie założono w układzie czterech bloków losowych. Składało się ono z 12 wariantów (3 rodzaje podłoża, 3 fungicydy i wariant kontrolny, w którym dęby nie były traktowane fungicydami). Wariant w bloku reprezentowany był przez dwie kasety (30 siewek). Do badań wykorzystano nasiona dębu szypułkowego rodzimego pochodzenia z niewyselekcjonowanej bazy rozmnożeniowej (makroregion 313, mikroregion 103).

Po zakończeniu sezonu wegetacyjnego pobrano losowo po 40 sadzonek z każdego wariantu (łącznie 480 dębów). W czasie pobierania materiału badawczego oddzielano bryłkę korzeniową od strzałki i dokonywano pomiaru grubości w szyjce korzeniowej i długości pędu z pączkiem szczytowym. Po przewiezieniu do laboratorium i wysuszeniu części nadziemnej w temperaturze 105°C określono jej suchą masę. Bryłki korzeniowe pakowano osobno w folię aluminiową, oznaczano i przechowywano w temperaturze –18°C. Przed przystąpieniem do badań rozmrożone bryłki korzeniowe płukano na sitach i z każdej pobierano losowo próbę korzeni o długości 1 m. Próby analizowano pod mikroskopem stereoskopowym przy powiększeniu 6-50 razy. Określano poziom zmikoryzowania (w %), licząc korzenie krótkie, autotroficzne i mikoryzowe. Wierzchołki mikoryzowe identyfikowano na podstawie braku włośników, obecności mufki grzybniowej, występowania strzępek i sznurów grzybniowych i hipertrofii korzeni. Mikoryzy klasyfikowano do morfotypów na podstawie kluczy [Agarar 1987-2006; Ingleby i in. 1990; Agarar, Rambold

Tabela 1.

Charakterystyka fungicydów
Characterization of the fungicides

| Nazwa handlowa preparatu | Zawartość substancji biologicznie czynnej w litrze środka | Klasa toksyczności | Producent |
|--------------------------|---|-------------------------------|---|
| Falcon 460 EC | spiroksamina 250 g tebukonazol 167 g triadimenol 43 g | szkodliwy | Bayer CropScience AG – Niemcy |
| Nimrod 250 EC | bupirymat 250 g | sklasyfikowany jako pozostałe | Makhteshim Chemical Works – Izrael |
| Siarkol Extra 80 WP | siarka 80% | sklasyfikowany jako pozostałe | Z. Ch. Organika-Sarzyna S.A. – Nowa Sarzyna |

2004-2007]. Po wykonaniu analiz korzenie suszono w temperaturze 105°C i ważono. Wartość hodowlaną sadzonek porównano przy wykorzystaniu wskaźnika określającego stosunek suchej masy części nadziemnej do suchej masy systemu korzeniowego. Obliczono wskaźnik rozgałęzienia jako liczbę korzeni krótkich (z mikoryzą i bez) przypadających na centymetr długości korzenia. W Okręgowej Stacji Chemiczno-Rolniczej w Warszawie (certyfikat akredytacji Nr AB 312 wydany przez Polskie Centrum Akredytacji 19 lipca 2007) określono zawartość N, P, K, Mg, Ca, S w liściach sadzonek.

Przed przystąpieniem do analiz statystycznych sprawdzono zgodność rozkładu poszczególnych parametrów z rozkładem normalnym, stosując test W Shapiro Wilka oraz porównano jednorodność wariancji testem Levene'a. Jeżeli rozkład testowanych parametrów nie różnił się istotnie od rozkładu normalnego oraz gdy wariancje porównywanych ze sobą wariantów badawczych były jednorodne, do testowania wartości średnich cech wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) oraz stosowano test RIR (rozsądnej istotnej różnicy) Tukeya. Gdy zachodziła konieczność stosowania testów nieparametrycznych, do analizy różnic między rozkładami badanych cech w kombinacjach doświadczalnych wykorzystano test U Manna Whitneya. Jako miary tendencji centralnej stosowano, podobnie jak w przypadku testów parametrycznych, średnią arytmetyczną, ze względu na mierzalny charakter testowanych danych. Cechy wyrażone w procentach (stopień zmikoryzowania korzeni, stopień zmikoryzowania korzeni grzybem *H. crustuliniforme*) poddano transformacji na wartości kątowe z wykorzystaniem wzoru:

$$\varphi = \arcsin \sqrt{p/100}$$

gdzie:

- φ – kąt w stopniach,
- p – wartość cechy w procentach,

a następnie wykonano analizy statystyczne danych zgodnie z wyżej przedstawionym schematem postępowania.

Wyniki

Dęby hodowane na niemikoryzowanym podłożu torfowo-perlitowym (C) nie różniły się istotnie wielkością cech wzrostowych części nadziemnej w zależności od zastosowanego fungicydu (grubość w szyi korzeniowej $p=0,1254$; długość pędu $p=0,4188$; sucha masa części nadziemnej $p=0,7950$). Sadzonki traktowane Nimrodem cechowały się istotnie mniejszą suchą masą korzeni w stosunku do wariantu kontrolnego ($p=0,0298$) (tab. 2 i 3). W obrębie mikoryzowanego podłoża

Tabela 2.

Cechy biometryczne części nadziemnej jednorocznych sadzonek dębu traktowanych dolistnie fungicydami

Biometric parameters of the above-ground parts of one-year old oak seedlings after the application of fungicides to foliage

| Wariant | Grubość w szyi korzeniowej [mm] | | Długość pędu [mm] | | Sucha masa części nadziemnej [g] | |
|---------------|---------------------------------|------|-------------------|------|----------------------------------|------|
| | x | v% | x | v% | x | v% |
| Podłoże C | | | | | | |
| Kontrola | 5,69 a | 16,9 | 248 a | 27,2 | 2,887 a | 36,1 |
| Falcon | 5,39 a | 13,8 | 221 a | 28,9 | 2,742 a | 33,8 |
| Nimrod | 5,27 a | 16,6 | 235 a | 32,3 | 2,652 a | 43,5 |
| Siarkol Extra | 5,62 a | 17,2 | 230 a | 34,8 | 2,814 a | 42,8 |
| Podłoże G | | | | | | |
| Kontrola | 5,50 ab | 23,1 | 239 a | 27,2 | 2,834 a | 46,9 |
| Falcon | 5,59 ab | 16,1 | 250 ab | 28,6 | 2,760 a | 38,9 |
| Nimrod | 6,14 b | 22,6 | 292 b | 27,0 | 3,729 b | 45,8 |
| Siarkol Extra | 5,13 a | 27,2 | 265 ab | 31,0 | 2,724 a | 58,5 |
| Podłoże M | | | | | | |
| Kontrola | 5,98 ab | 15,6 | 255 b | 25,4 | 2,890 ab | 36,3 |
| Falcon | 5,36 a | 17,8 | 211 a | 30,2 | 2,300 a | 38,1 |
| Nimrod | 5,84 ab | 23,2 | 236 ab | 34,5 | 2,939 b | 45,4 |
| Siarkol Extra | 6,03 b | 16,0 | 244 ab | 23,4 | 2,992 b | 35,4 |

x – średnia; v% – współczynnik zmienności; ta sama litera w kolumnach oznacza wartości nieróżniące się istotnie przy $p < 0,05$ w obrębie podłoży

x – mean; v% – coefficient of variation; the same letter in columns indicates values similar at $p < 0,05$ within substrate type

Tabela 3.

Cechy biometryczne korzeni i wartość hodowlana jednorocznych sadzonek dębu traktowanych dolistnie fungicydami

Biometric parameters of roots and silvicultural value of one-year old oak seedlings after the application of fungicides to foliage

| Wariant | Sucha masa korzeni [g] | | Wskaźnik rozgałęzienia [mm] | | Wartość hodowlana | |
|---------------|------------------------|------|-----------------------------|------|-------------------|------|
| | x | v% | x | v% | x | v% |
| Podłoże C | | | | | | |
| Kontrola | 3,870 b | 33,8 | 3,1 ab | 21,9 | 0,76 a | 19,0 |
| Falcon | 3,285 ab | 31,5 | 2,9 a | 20,2 | 0,85 a | 27,2 |
| Nimrod | 3,112 a | 40,1 | 3,4 b | 28,0 | 0,86 a | 25,0 |
| Siarkol Extra | 3,424 ab | 31,3 | 3,1 ab | 20,1 | 0,82 a | 25,6 |
| Podłoże G | | | | | | |
| Kontrola | 3,809 ab | 49,3 | 3,3 a | 24,2 | 0,77 a | 21,7 |
| Falcon | 4,087 ab | 44,4 | 3,6 a | 20,2 | 0,72 a | 33,0 |
| Nimrod | 4,751 b | 42,0 | 3,4 a | 22,6 | 0,81 a | 20,5 |
| Siarkol Extra | 3,550 a | 59,3 | 3,4 a | 23,5 | 0,79 a | 22,4 |
| Podłoże M | | | | | | |
| Kontrola | 3,745 a | 34,9 | 3,1 a | 24,1 | 0,80 a | 25,8 |
| Falcon | 3,157 a | 38,0 | 3,2 a | 25,5 | 0,75 a | 24,4 |
| Nimrod | 3,666 a | 47,2 | 3,0 a | 19,1 | 0,82 a | 25,3 |
| Siarkol Extra | 3,779 a | 39,4 | 3,0 a | 17,7 | 0,82 a | 18,9 |

Oznaczenia jak w tabeli 1; denotes as in table 1

torfowo-wermikulitowego (G) dęby traktowane Nimrodem charakteryzowały się lepszym wzrostem w porównaniu z sadzonkami z pozostałych wariantów (grubość w szyi korzeniowej $p=0,0051$; długość pędu $p=0,0112$; sucha masa części nadziemnej $p=0,0052$; sucha masa korzeni $p=0,0417$; wskaźnik rozgałęzienia $p=0,3556$) (tab. 2 i 3). U sadzonek hodowanych na mikoryzowanym podłożu torfowo-perlitowym (M) po aplikacji Falconu stwierdzono słabszy wzrost. Jednak tylko w przypadku długości pędu dęby kontrolne były istotnie większe od traktowanych tym środkiem ($p=0,0268$) (tab. 2 i 3). Na żadnym z podłoży nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w wielkości wartości hodowlanej dębów w zależności od zastosowanego fungicydu (podłoże C $p=0,0874$; podłoże G $p=0,2008$; podłoże M $p=0,3032$) (tab. 3).

Dęby hodowane na poszczególnych podłożach różniły się istotnie statystycznie wielkością większości cech wzrostowych. Wyjątek stanowi sucha masa części nadziemnej i wartość hodowlana (tab. 4). Sadzonki pochodzące z mikoryzowanego podłoża torfowo-wermikulitowego (G) były istotnie statystycznie większe od dębów z niemikoryzowanego podłoża torfowo-perlitowego (C) oraz z mikoryzowanego podłoża torfowo-perlitowego (M; w tym przypadku z wyjątkiem grubości w szyi korzeniowej).

Badane dęby różniły się także zawartością składników mineralnych w liściach w zależności od podłoża, na którym były hodowane (tab. 5). Zawartość azotu, potasu i wapnia była niższa u sadzonek pochodzących z podłoża G, a zawartość magnezu – wyższa.

Na korzeniach badanych sadzonek stwierdzono występowanie sześciu morfotypów mikoryz:

- mikoryzy z *H. crustuliniforme* – jasne z obfitą, białą grzybnią ekstrapatrykalną,
- mikoryzy brunatne z gładką, grubą mufką; sporadycznie pojawiały się cienkie ciemne ryzomorfy,

Tabela 4.

Cechy biometryczne (średnia i współczynnik zmienności w nawiasie) jednorocznych sadzonek dębu hodowanych na różnych podłożach

Biometric parameters (the mean and the variation coefficient in parenthesis) of one-year old oak seedlings grown on different substrates

| | C | G | M |
|----------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| Grubość w szyi korzeniowej [mm] | 5,49 (16,4) a | 5,59 (23,2) ab | 5,81 (18,8) b |
| Długość pędu [mm] | 234 (30,8) a | 262 (29,3) b | 236 (29,0) a |
| Sucha masa części nadziemnej [g] | 2,774 (39,0) a | 3,012 (49,6) a | 2,781 (40,2) a |
| Sucha masa korzeni [g] | 3,423 (34,9) a | 4,049 (49,0) b | 3,587 (40,5) a |
| Wskaźnik rozgałęzienia [szt./cm] | 3,1 (23,5) a | 3,4 (22,6) b | 3,1 (22,0) a |
| Wartość hodowlana | 0,82 (25,0) a | 0,77 (24,6) a | 0,80 (23,8) a |

Ta sama litera w kolumnach oznacza wartości nieróżniące się istotnie przy $p<0,05$;
The same letter in columns indicates values similar at $p<0.05$

Tabela 5.

Zawartość składników mineralnych [% s.m.] w liściach jednorocznych sadzonek dębu hodowanych na różnych podłożach

The content of mineral elements [% of dry mass] in the foliage of one-year old oak seedlings grown on different substrates

| Podłoże | Azot | Fosfor | Potas | Magnez | Wapń | Siarka |
|---------|------|--------|-------|--------|------|--------|
| C | 2,47 | 0,19 | 0,67 | 0,19 | 1,78 | 0,15 |
| G | 1,69 | 0,19 | 0,55 | 0,48 | 1,43 | 0,12 |
| M | 2,39 | 0,20 | 0,67 | 0,21 | 1,63 | 0,13 |

- mikoryzy typu *Laccaria* – jasnopomarańczowa mufka z krótkimi, jasnymi, mało obfitymi strzępkami grzybni ekstramatrykalnej (stwierdzono występowanie owocników *Laccaria laccata*),
- mikoryzy brunatne z cienką, gładką mufką,
- mikoryzy z *Cenococcum gophillum* – czarne z czarnymi sztywnymi strzępkami odra-
stającymi od powierzchni mufki,
- mikoryzy kremowe o klinowatym kształcie, z niezbyt grubą mufką i delikatną grzybnią ekstramatrykalną.

Najwyższy stopień zmikoryzowania (91,2%) osiągnęły dęby hodowane na mikoryzowanym podłożu torfowo-wermikulitowym. Słabiej zmikoryzowane były sadzonki pochodzące z mikoryzowanego podłoża torfowo-perlitowego (69,0%), a najniższym poziomem zmikoryzowania charakteryzowały się dęby z podłoża niemikoryzowanego torfowo-pelitowego (61,5%). Różnice te były istotne statystycznie (G i M $p=0,0000$; G i C $p=0,0000$; M i C $p=0,0635$).

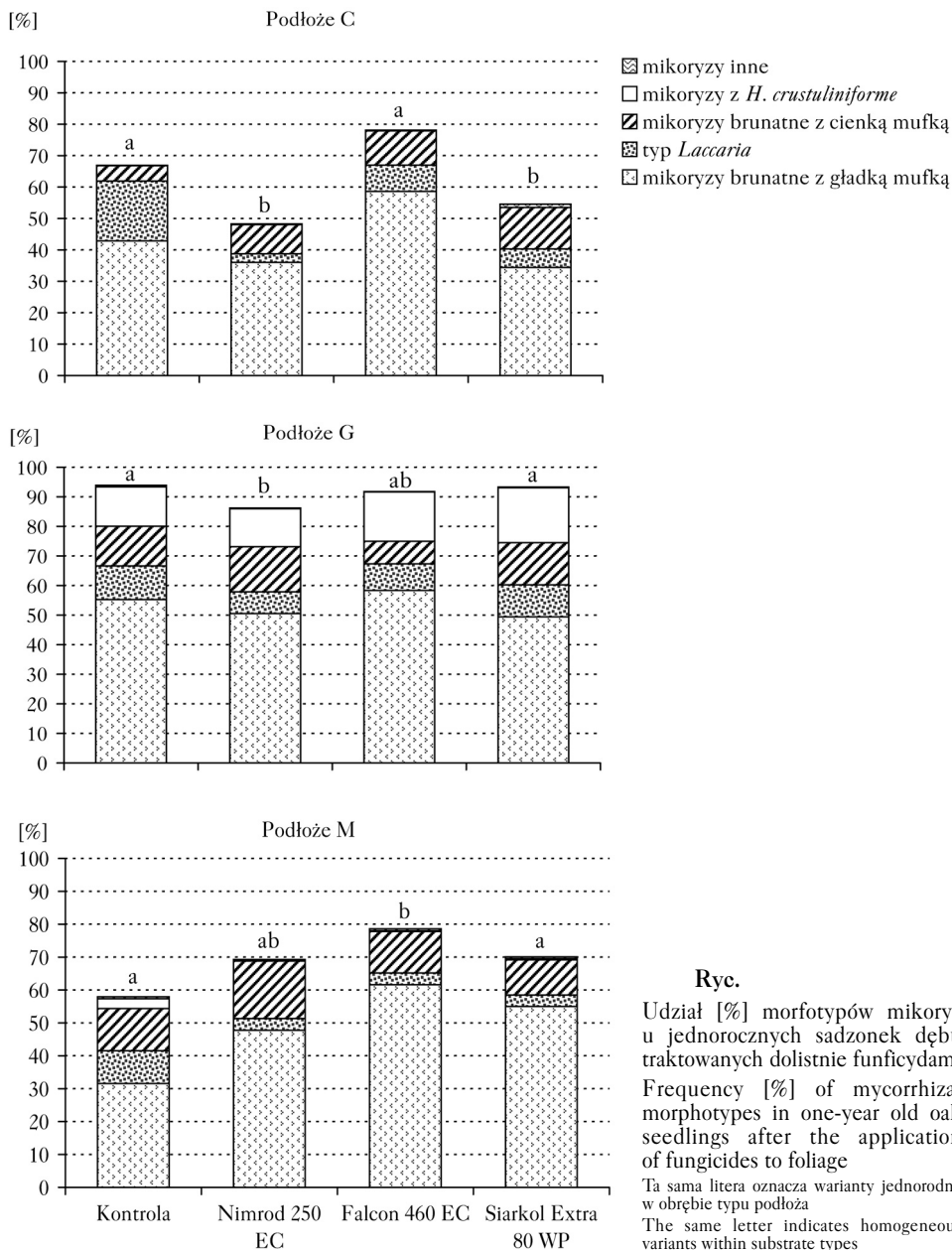
Dęby niemikoryzowane (podłoże C) po dolistnej aplikacji Siarkolu ($p=0,0045$) i Nimrodu ($p=0,0256$) były istotnie słabiej zmikoryzowane w porównaniu z roślinami nietraktowanymi fungicydami. Dolistne zastosowanie Nimrodu spowodowało obniżenie ogólnego stopnia zmikoryzowania dębów hodowanych na mikoryzowanym podłożu torfowo-wermikulitowym w stosunku do wariantu kontrolnego ($p=0,0120$). W obrębie mikoryzowanego podłoża torfowo-perlitowego sadzonki traktowane Falconem były istotnie bardziej zmikoryzowane w porównaniu z dębami kontrolnymi ($p=0,0191$) (ryc.).

Udział wprowadzonego ze szczepionką *H. crustuliniforme* na korzeniach dębów hodowanych na podłożu G wynosił średnio 15,4%. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w udziale tego gatunku w zależności od zastosowanego fungicydu ($p=0,2908$). Na korzeniach dębów pochodzących z podłoża M stwierdzono bardzo niski (średnio 0,9%) udział mikoryz tworzonych przez *H. crustuliniforme*. Najwyższy procent korzeni z *H. crustuliniforme* występował w wariacie kontrolnym (3,0%), najniższy zaś po zastosowaniu Nimrodu – 0,1%. Przeprowadzone analizy nie wykazały istotnych statystycznie różnic pomiędzy rozkładami cechy poszczególnych wariantów ($p=0,05$; ryc.).

Dyskusja

Fungicydy, jako grupa środków ochrony roślin, powinny przede wszystkim skutecznie zapobiegać infekcji i rozwojowi choroby. Zdarza się jednak, że niektóre z nich w pewnych warunkach mogą wpływać na chronione rośliny. Znane jest nie tylko działanie fitotoksyczne fungicydów, ale również korzystne. Z preparatów zastosowanych w doświadczeniu, wpływu na chronione rośliny można było spodziewać się w wyniku aplikacji Siarkolu Extra. Preparaty siarkowe stosowane w warunkach wysokiej temperatury, a zwłaszcza silnego, bezpośredniego nasłonecznienia, mogą powodować nekrozy na liściach. Ponadto aplikowane wielokrotnie w sezonie wegetacyjnym powodują spadek zawartości chlorofilu i ograniczenie fotosyntezy, czego efektem będzie zahamowanie wzrostu ochraniających roślin [Byrdy i in. 1976; Borecki 1981, 1996; Kryczyński 2005].

W przeprowadzonym doświadczeniu dolistna aplikacja Siarkolu Extra nie miała wpływu na kształtowanie parametrów biometrycznych ochraniających jednorocznych sadzonek dębu. Uzyskane wyniki wskazują, że Siarkol Extra jest fungicydem bezpiecznym. Warunki stworzone w doświadczeniu mogły sprzyjać fitotoksyczności preparatu. Wprawdzie sadzonki nie były wystawione na bezpośrednią, silną insolację słoneczną, lecz temperatura w namiotach była znacznie wyższa niż ma to miejsce w warunkach polowych. Podobnie, dawki fungicydu były kilkakrotnie większe



od zalecanych przez IBL (zastosowano 1000 l cieczy roboczej/ha przy zalecanej 200-300 l/ha [Głowacka 2007]). Być może o braku fitotoksyczności zdecydował fakt, że wykonano tylko cztery zabiegi w sezonie.

Interesującym wynikiem uzyskanym w doświadczeniu jest wyraźny wpływ Nimrodu i Falconu na wzrost dębów. Jest przeciwny (stymulacja i inhibicja), a zjawisko to dotyczy tylko podłoża z dodatkiem szczepionki mikoryzowej: w przypadku Nimrodu podłoża G (sterylizowany torf estoński z dodatkiem warmikulitu), a w przypadku Falconu – z podłoża M (niesterylizowany torf estoński z dodatkiem warmikulitu).

zowanego torfowo-perlitowego). Ograniczający wpływ Falconu na wzrost części nadziemnej najprawdopodobniej wynika z istotnie wyższego poziomu zmikoryzowania korzeni dębów z tego wariantu. Takie zależności są wykazywane przez wielu autorów [Shaw i in. 1987; Browning, Whitney 1992; Aleksandrowicz-Trzczińska 2002], a w naszym doświadczeniu, dla Falconu, zostały zaobserwowane tylko na jednym z podłoży (M). Wynikają one z konieczności przekazywania przez roślinę gospodarza części produktów fotosyntezy partnerom grzybowym, co skutkuje ograniczeniem wzrostu rośliny [Högberg, Högberg 2002; Högberg i in 2007]. W pierwszych latach życia drzew zjawisko to traktowane jest jako naturalny proces fizjologiczny [Stenström, Ek 1990].

Wyraźną stymulację wzrostu dębów hodowanych na mikryzowanym podłożu torfowo-wermikulitowym po dolistnej aplikacji Nimrodu można jedynie częściowo wytłumaczyć istotnie słabszym zmikoryzowaniem tych sadzonek. Dęby niemikoryzowane (podłoże C) i traktowane Nemrodem były również najslabiej zmikoryzowane, a jednak nie różniły się parametrami wzrostowymi części nadziemnej, a ich korzenie były istotnie krótsze. Być może duży wpływ na kształtowanie parametrów wzrostowych ma w tym przypadku wprowadzony ze szczepionką *H. crustuliniforme*. Jest to gatunek dość silnie rozbudowujący grzybnię ekstramatrykalną i wymagający stosunkowo dużych nakładów energetycznych ze strony rośliny [Stenström, Ek 1990; Hilszczańska 2001]. Udział *H. crustuliniforme* na korzeniach dębów z podłoża torfowo-wermikulitowego traktowanych Nemrodem był najniższy w porównaniu z innymi wariantami, chociaż różnice te okazały się nieistotne statystycznie.

Duży wpływ na kształtowanie parametrów biometrycznych sadzonek miał rodzaj podłoża, na którym je hodowano. W doświadczeniu zastosowano trzy zróżnicowane podłoża. Podłoże C i M stanowił torf wysoki niesterylizowany z dodatkiem perlitu. Podłoże G oparte było na sterylizowanym torfie pochodzącym z Estonii z 30% dodatkiem wermikulitu. Do podłoży G i M dodano szczepionkę mikoryzową opartą na grzybie *H. crustuliniforme*. Najmniejsze okazały się dęby hodowane na podłożu torfowo-perlitowym, niesterylizowanym i nieszczepionym (C). Dotyczy to wszystkich parametrów biometrycznych zarówno części nadziemnej, jak i korzenia (z wyjątkiem suchej masy części nadziemnej). Najlepsze do produkcji sadzonek dębu było podłoże torfowo-wermikulitowe oparte na torfie estońskim, sterylizowane i szczepione grzybem *H. crustuliniforme* (G). Dęby hodowane na tym podłożu osiągnęły największe parametry biometryczne.

Poziom zmikoryzowania dębu był zróżnicowany. Czynnikiem najsilniej wpływającym na kształtowanie tego parametru było, podobnie jak w przypadku cech biometrycznych, podłoże hodowlane. Najlepszym podłożem do tworzenia związków mikoryzowych był estoński torf wysoki sterylizowany z dodatkiem wermikulitu i szczepionki mikoryzowej (podłoże G). Dodanie szczepionki mikoryzowej, bez względu na rodzaj podłoża, zawsze korzystnie wpływało na ogólny poziom zmikoryzowania dębów.

Czynnikiem regulującym poziom kolonizacji mikoryzowej jest dostępność składników pokarmowych [Baule, Frickner 1973; Väre 1990; Kieliszewska-Rokicka 1992; Rudawska 1993]. Nadmierne nawożenie, szczególnie azotowe, wpływa ograniczająco na tworzenie nowych i funkcjonowanie już istniejących mikoryz [Rudawska 1998]. Miarą zasobności podłoża może być zawartość pierwiastków w roślinie. W doświadczeniu zawartość azotu w aparacie asymilacyjnym dębów hodowanych na niesterylizowanych podłożach torfowo-perlitowych była zbliżona i zawierała się w przedziale wartości optymalnych dla tego gatunku (C – 2,47%, M – 2,39%) [Walendzik, Szołtyk 1993], ale mogła być jednym z czynników wpływających ograniczająco na tworzenie związków mikoryzowych. Znacznie niższą (1,69%) zawartość azotu stwierdzono

u sadzonek pochodzących z sterylizowanego podłoża torfowo-wermikulitowego (G). Wartość ta, niższa od uznawanej za niedobór azotu [Walendziak, Szoltyk 1993], z pewnością nie szkodziła nawiązywaniu układów mikoryzowych. Poziom zmikoryzowania dębów hodowanych na tym podłożu był bardzo wysoki, ponad 90%. Gagnon i in. [1991] stwierdzili, że optymalna zawartość azotu dla prawidłowego tworzenia i funkcjonowania symbiozy mikoryzowej dębu czerwonego i lakówki dwubarwej wynosi 1,2%. Zawartość azotu w aparacie asymilacyjnym siewek drzew leśnych, produkowanych w szkółkach, uznawana za optymalną może wpływać ograniczająco na tworzenie mikoryz [Rudawska 1998].

Wpływ zastosowanych dolistnie fungicydów na mikoryzy dębu był zróżnicowany. Najkorzystniejsze działanie na tworzenie związków mikoryzowych obserwowano po aplikacji Falconu. Ogólne zmikoryzowanie korzeni dębów traktowanych Falconem jest porównywalne lub wyższe, czasami istotnie statystycznie z wariantami kontrolnymi na poszczególnych podłożach. Wyniki badań wskazują również na brak niekorzystnego wpływu środka na związki mikoryzowe tworzone z grzybem *H. crustuliniforme*. Najwyraźniejszą stymulację ogólnego zmikoryzowania korzeni zaobserwowano u dębów hodowanych na podłożu torfowo-perlitowym z dodatkiem szczepionki mikoryzowej (M). Podobnie, brak szkodliwego wpływu fungicydu pokazały testy podczas wdrażania polskiej technologii sterowanej mikoryzacji w szkółkach leśnych [Kowalski 2006; Aleksandrowicz-Trzcńska 2007b].

Stosunkowo mało korzystnym oddziaływaniem na symbiozę mikoryzową, wśród badanych fungicydów, charakteryzował się Siarkol Extra. Na dwóch z trzech badanych podłoży różnice w poziomie zmikoryzowania w stosunku do wariantu kontrolnego nie były jednak istotne statystycznie. Wyjątek stanowi podłoże torfowo-perlitowe bez szczepionki mikoryzowej (C). Dolistna aplikacja Siarkolu w ochronie dębów rosnących na tym podłożu wyraźnie ograniczyła spontaniczne tworzenie mikoryz. Zjawisko to, przynajmniej częściowo, można wyjaśnić możliwością fitotoksycznego oddziaływania Siarkolu na ochraniające rośliny, przejawiającego się zmniejszeniem zawartości chlorofilu w liściach, co skutkuje ograniczeniem fotosyntezy [Kryczyński 2005]. Zmniejszenie natężenia fotosyntezy powoduje niedostateczny przepływ węglowodanów z aparatu asymilacyjnego do korzeni, co z kolei prowadzi do ograniczenia tworzenia mikoryz, gdyż grzyby, partnerzy mikoryzowi, są całkowicie zależni od cukrów rośliny gospodarza [Rudawska 1993].

Mimo niekorzystnego wpływu Siarkolu na ogólny poziom zmikoryzowania, nie obserwowano ograniczenia udziału mikoryz tworzonych przez *H. crustuliniforme*. Uznanie Siarkolu za środek bezpieczny dla rozwoju symbiozy ektomikoryzowej z grzybem *H. crustuliniforme* potwierdzają dodatkowo wyniki testów przeprowadzonych w szkółkach leśnych podczas wdrażania polskiej technologii sterowanej mikoryzacji [Kowalski 2006; Aleksandrowicz-Trzcńska 2007b]. Należy tutaj również zaznaczyć, że w doświadczeniu stosowano najwyższe z zalecanych stężeń preparatu – 0,6% [Głowacka 2007], a ilość cieczy roboczej w była kilkakrotnie wyższa od zalecanej (1000 wobec 200-300 l/ha).

Szkodliwym oddziaływaniem na mikoryzy dębów, podobnie jak Siarkol, wykazał się również Nimrod. Jego wpływ był zależny od rodzaju podłoża. Istotnie niższy ogólny poziom zmikoryzowania korzeni wskazuje na hamujący wpływ Nimrodu na tworzenie związków mikoryzowych przez dęby hodowane na niesterylizowanym podłożu torfowo-perlitowym bez dodatku szczepionki mikoryzowej (C) i mikoryzowanym podłożu torfowo-wermikulitowym (G). Dotychczas nie ukazały się żadne dane, zarówno w literaturze polskiej, jak i światowej, dotyczące wpływu tego preparatu na grzyby ektomikoryzowe i tworzone przez nie symbiozy z drzewami leśnymi.

Wnioski

- ✦ Rodzaj podłoża w większym stopniu determinuje wzrost jednorocznych sadzonek dębu szypułkowego niż ilościowy i jakościowy stan mikoryz oraz zastosowanie fungicydów.
- ✦ Sterylizowany, estoński torf wysoki z dodatkiem szczepionki mikoryzowej z grzybem *H. crustuliniforme* był najlepszym podłożem do hodowli badanych dębów. Sadzonki rosnące na tym substracie charakteryzowały się dobrymi parametrami wzrostowymi części nadziemnej i najlepiej rozwiniętym systemem korzeniowym. Również parametry wskazujące na poziom zmikoryzowania korzeni były najwyższe w porównaniu z parametrami charakteryzującymi dęby hodowane na pozostałych badanych podłożach.
- ✦ Siarkol Extra 80 WP aplikowany dolistnie nie miał wpływu na kształtowanie cech wzrostowych części nadziemnej i systemu korzeniowego jednorocznego dębu szypułkowego. Falcon 460 EC nieznacznie ograniczał wzrost pędu. Nimrod 250 EC natomiast wyraźnie stymulował wzrost części nadziemnej. Żaden z aplikowanych dolistnie środków nie powodował zmian wartości hodowlanej sadzonek.
- ✦ Badane fungicydy w zróżnicowany sposób wpływały na stan mikoryz jednorocznych sadzonek dębu szypułkowego. Falcon 460 EC pozostaje bez wpływu na związki tworzone przez *H. crustuliniforme*, a w pewnych warunkach może powodować stymulację mikoryz powstających spontanicznie. Siarkol Extra 80 WP i Nimrod 250 EC są fungicydami, które powinny być stosowane z dużą ostrożnością w ochronie sadzonek. Wprawdzie nie powodują one inhibicji tworzenia mikoryz z *H. crustuliniforme*, lecz mogą ograniczająco wpływać na mikoryzację spontaniczną.

Literatura

- Agarer R. 1987-2006. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn Verlag, Schwabisch-Gmünd.
- Agarer R., Rambold G. 2004-2007. DEEMY – An information system for characterization and determination of ectomycorrhizae. Munch. Ludwig Maximilians University.
- Aleksandrowicz-Trzcńska M. 2002. Wpływ fungicydów na wzrost i kolonizację mikoryzową sadzonek sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) hodowanych w kontenerach. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
- Aleksandrowicz-Trzcńska M. 2007a. Zabiegi chemicznej ochrony roślin, a technologie sterowanej mikoryzacji sadzonek drzew leśnych. W: Kowalski S. [red.]. Ektomikoryzy. Nowe biotechnologie w polskim szkolkarstwie leśnym. CILP. 145-152.
- Aleksandrowicz-Trzcńska M. 2007b. Wpływ środków chemicznych stosowanych w szkółkach leśnych w ochronie różnych gatunków drzew na mikoryzy tworzone przez grzyb *Hebeloma crustuliniforme*, pochodzący ze sterowanej mikoryzacji. W: Kowalski S. [red.]. Ektomikoryzy. Nowe biotechnologie w polskim szkolkarstwie leśnym. CILP. 152-160.
- Baule S., Fricker C. 1973. Nawożenie drzew leśnych. PWRiL, Warszawa.
- Borecki Z. 1981. Materiały do zajęć specjalizacyjnych z fitopatologii. Część IV. Fungicydy stosowane w ochronie roślin. Skrypt SGGW-AR, Warszawa.
- Borecki Z. 1996. Nauka o chorobach roślin. PWRiL, Warszawa.
- Browning M. H. R., Whitney R. D. 1992. Field performance of black spruce and jack pine inoculated with selected species of ectomycorrhizal fungi. Can. J. For. Res. 22: 1974-1982.
- Byrds S., Górecki K., Łaszcz E. 1976. Pestycydy. PWRiL, Warszawa.
- Dominiak T. 1961. Studium o mikoryzie. Fol. For. Pol., Ser. A, 5: 3-160.
- Duda B., Stocka T., Sierota Z. 2007. Zagrożenia chorobowe w szkółkach leśnych. Postępy Techniki w Leśnictwie 101: 25-31.
- Gagnon J., Langlois C. G., Garbaye J. 1991. Growth and ectomycorrhiza formation of container-grown red oak seedlings as a function of nitrogen fertilization and inoculum type of *Laccaria bicolor*. Can. J. For. Res. 21:966-973.
- Głowacka B. 2007. Środki ochrony roślin zalecane do stosowania w leśnictwie w roku 2008. IBL, Analizy i Raporty 9.
- Hilszczańska D. 2001. Wpływ wilgotności podłoża na rozwój mikoryz siewek sosny zwyczajnej *Pinus sylvestris* L. Praca doktorska SGGW, Wydział Leśny, Warszawa.

- Högberg M. N., Högberg P. 2002. Extramatrical ectomycorrhizal mycelium contributes one-third of microbial biomass and produces, together with associated root, half the dissolved organic carbon in a forest soil. *New Phytologist* 154: 791-795.
- Högberg P., Högberg M. N., Göttlicher S. G., Betson N. R., Keel S. G., Metcalfe D. B., Campbell C., Schindlbacher A., Hurry V., Lundmark T., Linder S., Näshölm T. 2008. High temporal resolution tracing of photosynthate carbon from the tree canopy to forest soil microorganisms. *New Phytologist* 177: 220-228.
- Ingleby K., Mason P. A., Last F., Fleming L. V. 1990. Identification of ectomycorrhizas. HMSO, London.
- Kieliszewska-Rokicka B. 1992. Effect of nitrogen level on acid phosphatase activity of eight isolates ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* cultured in vitro. *Plant a. Soil* 139: 229-238.
- Kowalski S. 2006. Ocena rozwoju polskiej, sterowanej mikoryzacji sadzonek drzew leśnych wraz z wdrożeniem wyników badań. Sprawozdanie końcowe z pracy wykonanej na zamówienie Ministra Środowiska. Kraków.
- Kryczyński S. 2005. Podstawy fitopatologii. Wyd. III, Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa.
- Piwnicki J., Duda B. 2000. Skuteczność preparatu Tiotar 800 SC w zabiegach ograniczania mączniaka prawdziwego dębu w szkółkach leśnych. W: Chemiczna metoda ochrony roślin drzewiastych przed chorobami – pozytywne aspekty i zagrożenia. Materiały z IV Konferencji Sekcji Chorób Roślin Drzewiastych PTF Rogów-Skierniewice 5-7 lipca 2000.
- Rudawska M. 1993. Mikoryza. W: Biologia sosny zwyczajnej. Sorus, Poznań – Kórnik. 137-182.
- Rudawska M. 1998. Wpływ nawożenia azotowego na stan mikoryz *Pinus sylvestris* w szkółkach leśnych. W: Profilaktyka i terapia w szkółkach leśnych zagrożonych przez choroby infekcyjne. Materiały konferencji naukowo-technicznej 24-25. 03. 1998 Warszawa - Sękocin.
- Shaw III C. G., Sidle R. C., Harris A. S. 1987. Evaluation of planting sites common to a southeast Alaska clear-cut. III. Effects of microsite type and ectomycorrhizal inoculation on growth and survival of Sitka spruce seedlings. *Can. J. For. Res.* 17: 334-339.
- Sierota Z. 1998. Choroby infekcyjne w szkółkach leśnych – rozmiar zagrożeń. W: Profilaktyka i terapia w szkółkach leśnych zagrożonych przez choroby infekcyjne. Materiały konferencji naukowo-technicznej 24-25. 03. 1998 Warszawa – Sękocin.
- Stenström E., Ek M. 1990. Field growth of *Pinus sylvestris* following nursery inoculation with mycorrhizal fungi. *Can. J. For. Res.* 20: 914-918.
- Trappe J. M., Molina R., Castellano M. 1984. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhiza formation to pesticides. *Ann. Rev. Phytopathol.* 22: 331-359.
- Väre H. 1990. Effects of soil fertility on root colonization and plant growth of *Pinus sylvestris* nursery seedlings inoculated with different ectomycorrhizal fungi. *Scand. J. For. Res.* 5: 493-499.
- Walendzik R. J., Szoltyk G. 1993. Nawożenie mineralne i wapnowanie szkólek leśnych. *Post. Tech. Leś.* 53: 29-39.
- Wilde S. A., Persidsky D. J. 1954. Effect of biocides on the development of ectotrophic mycorrhizae on Monterey pine seedlings. *Agronomy Abstracts*, Nov.: 8 -12.

SUMMARY

Effect of fungicides used in the protection against powdery mildew on growth and mycorrhizal colonization of container-grown oak seedlings

The aim of the study was to examine the effect of three foliar applications of fungicides: Falcon 460 EC, Nimrod 250 EC and Siarkol Extra 80 WP on the growth and level of mycorrhizal colonization of one-year old seedlings of pedunculate oak. The seedlings were container-grown in a plastic greenhouse on three kinds of substrates. Substrate G consisted of sterilized sphagnum peat, 30% of vermiculite, and 3% of mycorrhizal vaccine based on the vegetative mycelium of *Hebeloma crustuliniforme*. Substrates C and M were based on non-sterilized 'garden' peat mixed with perlite in the proportion 2:1. 6% of the *H. crustuliniforme* vaccine was added to substrate M. The growth and quality of plants was assessed on the basis of the following characteristics: thickness of root collar, shoot length, dry weight of shoots and roots. Counting autotrophic and mycorrhizal tips divided into morphotypes determined the level of root mycorrhization.

The growth of oak seedlings was, to the greatest extent, determined by the kind of the substrate on which they were grown. Less important were the quantitative and qualitative status of mycorrhizae and the use of fungicides. The best medium was substrate G. The seedlings grown

on the substrate were characterized by the best parameters of the above-ground parts and root system. Also the level of root mycorrhization was the highest in comparison with the parameters characterizing the oaks grown on other tested substrates.

Siarkol Extra 80 WP applied to the foliage had no influence on the growth parameters of oak. Falcon 460 EC only slightly reduced the growth shoots, while Nimrod 250 EC clearly stimulated the growth of the above-ground parts.

The tested fungicides influenced the mycorrhizal status of oak seedlings to different ways. Falcon 460 EC had no effect on the relationships created by *H. crustuliniforme* and, in certain conditions, stimulated the spontaneous formation of mycorrhizae. The tests showed that Siarkol Extra 80 WP and Nimrod 250 EC should be used with caution in seedling protection. Although they do not inhibit the formation of *H. crustuliniforme* mycorrhizae, they can have an inhibiting effect on spontaneous mycorrhization.