

MARTA ALEKSANDROWICZ-TRZCIŃSKA,  
BARBARA KIELISZEWSKA-ROKICKA

# Wpływ fungicydów stosowanych w ochronie szkółek leśnych na rozwój mikoryz siewek sosny\*

## Część I. Badania zawartości ergosterolu w korzeniach

The impact of fungicides used at forest nursery protection  
on the development of pine seedling mycorrhiza  
Part I. Research on the content of ergosterol in roots

**Abstrakt.** The level of mycorrhiza development in root systems of one-year old seedlings of *Pinus sylvestris* was studied. The plants were treated with *Hebeloma crustuliniforme* fungus and sprayed with fungicides: Bayleton 5WP, Bravo 500S.C., Dithane M45, Euparen 50 WP, Topsin M 70WP, preparation ground: Funaben T. The content of ergosterol in seedling roots was the index allowing to find the occurrence of a mycorrhiza and to assess its amount.

**Słowa kluczowe:** Scots pine, ectomycorrhiza, fungicides, ergosterol

### Wstęp

Sosna zwyczajna, podobnie jak wiele innych gatunków drzew leśnych, jest obligatoryjnie ektomikoryzowa (3). Dlatego też już na etapie produkcji szkółkarskiej korzenie siewek powinny tworzyć symbiozę z grzybami mikoryzowymi. Mikoryzy mogą powstawać na drodze inokulacji naturalnych lub w wyniku sztucznej mikoryzacji. Inokulacja naturalna zachodzi wówczas, gdy do szkółki położonej w pobliżu obszarów leśnych docierają zarodniki grzybów owocujących w sąsiedztwie drzew i rozwijają w glebie grzybnię mikoryzową. Sztuczna mikoryzacja, wskazana zwłaszcza w przypadku produkcji z zakrytym systemem korzeniowym, polega na wprowadzaniu do podłoża określonych

\* Badania wykonano w ramach projektu badawczego finansowanego przez Narodowy Fundusz Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej (Nr 409/97/W-50/NE-PO-TX/D)

grzybów mikoryzowych w postaci odpowiednio przygotowanej szczepionki. Jednym z zagrożeń dla wzrostu grzybni i prawidłowego rozwoju mikoryz mogą być stosowane w ochronie szkółek leśnych pestycydy, a zwłaszcza fungicydy (5, 7, 13).

Stopień zmikoryzowania systemów korzeniowych drzew leśnych może być określany tradycyjnie, niezwykle pracochłonną metodą liczenia wierzchołków korzeni mikoryzowych i autotroficznych, przypadających na cały system korzeniowy, jego części, lub na jednostkę objętości gleby. Metody alternatywne polegają na oznaczaniu w korzeniach zawartości związków chemicznych specyficznych dla grzybów, a nie występujących w roślinie, jak chityna, trehaloza i ergosterol.

Za najlepszy wskaźnik żywej biomasy grzybów jest uważany ergosterol - związek lipidowy, główny składnik błon komórkowych grzybów, silnie związany z żywą cytoplazmą (9, 11). Metoda analizy ergosterolu jest bardzo czuła i stosunkowo szybka. Można ją stosować w celu określenia przyrostu biomasy grzybni w czystych kulturach (11), oceny stopnia kolonizacji mikoryzowej korzeni siewek inokulowanych symbiontem grzybowym w warunkach kontrolowanych (11, 12), jak również do porównywania żywej biomasy grzybni mikoryzowej w korzeniach siewek i drzew rosnących w warunkach leśnych (7, 8, 14).

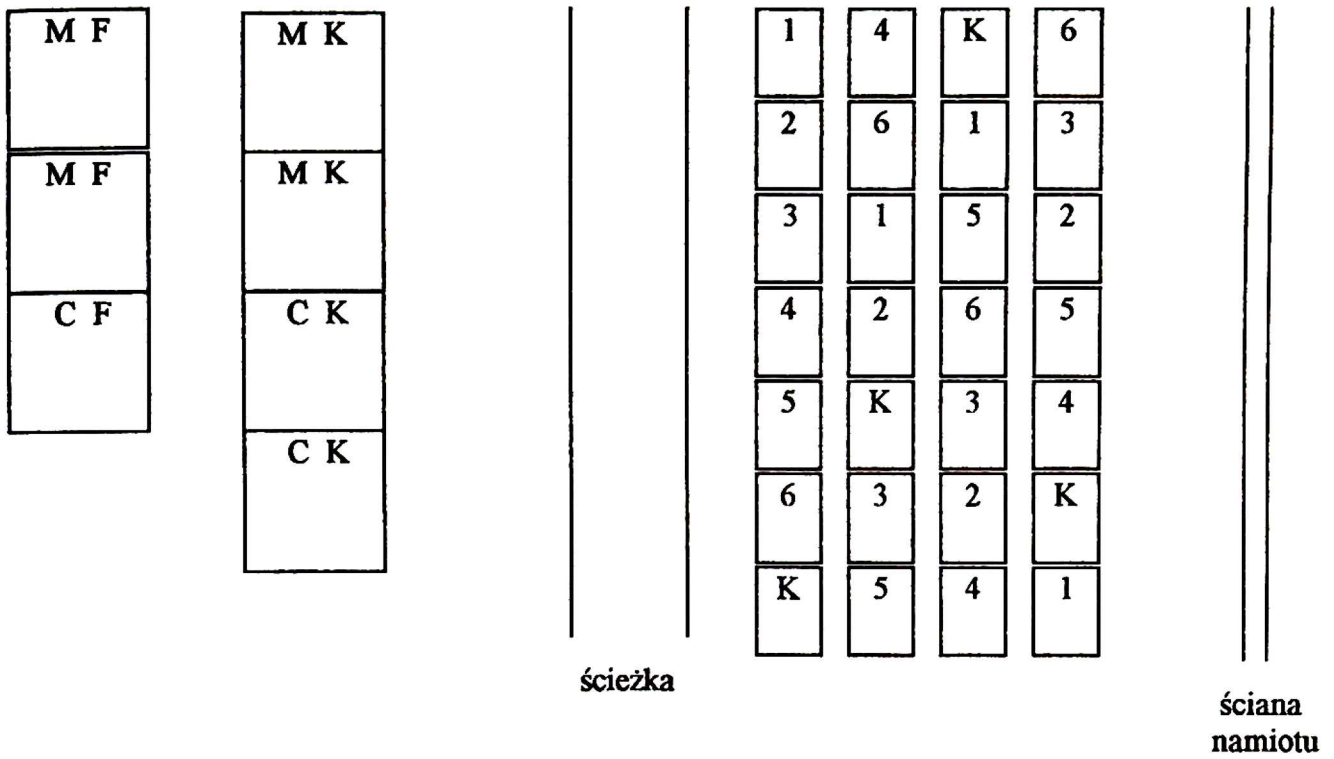
Celem pracy była ocena wrażliwości na fungicydy mikoryz rocznych siewek sosny zwyczajnej mikoryzowanych szczepionką mikoryzową prof. S. Kowalskiego z grzybem *Hebeloma crustuliniforme* (Bull.) Quéf. Poziom ergosterolu w korzeniach siewek wykorzystano jako wskaźnik obecności mikoryzy oraz jej stanu ilościowego.

## Materiał i metody

Doświadczenie testujące wpływ fungicydów stosowanych w ochronie szkółek leśnych na rozwój mikoryz siewek sosny założono w namiocie foliowym, w Szkółkarskim Ośrodku Szkoleniowym Leśnego Zakładu Doświadczalnego SGGW w Rogowie. Podłożem do produkcji siewek był torf z perlitem w stosunku 2 : 1. Szczepionkę mikoryzową prof. S. Kowalskiego z grzybem *H. crustuliniforme* dodawano do podłoża w ilości 3% jego objętości. Doświadczenie założono w kasetach o wymiarach 35 x 21 cm, z których każda zawierała 40 doniczek o pojemności 120 cm<sup>3</sup>. Siew wykonano 15 maja 1998 r.

W celu wyeliminowania zmienności warunków mikroklimatycznych w namiocie foliowym, doświadczenie założono w układzie bloków losowych. Składało się ono z 7 wariantów w 4 powtórzeniach (blokach). Wariantami doświadczenia były siewki sosny traktowane sześcioma różnymi fungicydami oraz, jako porównanie, siewki nieopryskiwane. W każdym bloku wariant bez opryskiwania stanowiły siewki w czterech kasetach: w dwóch do podłoża dodawano szczepionkę mikoryzową (podłoże M), w dwóch pozostałych podłoże nie zawierało szczepionki (podłoże C). Dla siewek opryskiwanych fungicydami każdy wariant składał się z trzech kaset: dwóch z podłożem mikoryzowanym (podłoże M), jednej z niemikoryzowanym (podłoże C). Schemat rozmieszczenia kaset w namiocie foliowym przedstawia rycina 1.

Do doświadczenia wybrano 6 fungicydów spośród najczęściej stosowanych do ochrony siewek i sadzonek sosny w szkółkach leśnych (2). Charakterystykę fungicydów (1) przedstawia tabela. Program opryskiwań fungicydami opracowano tak, aby symulował zabiegi



RYC. 1. Schemat doświadczenia w namiocie foliowym.

Rodzaje podłoża: M – torf + perlit + szczepionka; C – torf + perlit

Warianty na podłożu C i M:

1. Dithane M45; 2. Topsin M. ; 3. Bravo 500; 4. Funaben T; 5. Euparen; 6. Bayleton; 7. Kontrola  
 Podstawowe zestawy wariantów (F – fungicyd, K – kontrola) ; blok I – IV

TABELA  
 Charakterystyka testowanych fungicydów

Nazwa handlowa preparatu	Procentowa zawartość środka czynnego	Klasa toksyczności	Producent
Bayleton 5 WP	triadimefon 5%	IV	Organika-Sarzyna Polska wg licencji Bayer AG Niemcy
Bravo 500 SC	chlorotolonil 50%	V	IKS Biosciences Europe Ltd Wielka Brytania
Dithane M45	mankozeb 80%	IV	Rohm and Haas USA
Euparen 50 WP	dichlofluanid 50%	IV	Bayer AG Niemcy
Topsin M 70 WP	tiofonat-metylu 70%	V	Nippon Soda Company Ltd Japonia
Zapr. Funaben T	karbendazym 20%, tiuram 45%	V	Organika-Sarzyna Polska

ochronne wykonywane przeciwko konkretnymi chorobom, występującym na sośnie w szkółkach leśnych. Terminy opryskiwań, ich częstotliwość oraz dawki fungicydów dobrano na podstawie zaleceń wydawanych corocznie przez IBL (10), przyjmując największe, dopuszczalne koncentracje oraz największą liczbę zabiegów, przeprowadzanych w najkrótszych odstępach czasu. Opryskiwania rozpoczęto 15 czerwca 1998 r.

Dla poszczególnych fungicydów program opryskiwań przedstawiał się następująco:

- Bayleton 5WP – opryskiwania jak na rdze (*Melampsora pinitorqua* Rostr., *Coleosporium tussilaginis* Lev.), 3 razy co dwa tygodnie, od 15 czerwca do 13 lipca, w dawce 2 kg/ha, w stężeniu 0,2%
- Bravo 500SC – opryskiwania jak na zamierania pędów sosny (*Gremmeniella abietina* (Lagerb.) Morelet, *Cenangium ferruginosum* Fr.), 6 razy co 3 tygodnie, od 15 czerwca do 28 września, w dawce 3 l/ha, w stężeniu 0,3%.
- Dithane M45 – opryskiwania jak na osutki sosny (*Lophodermium seeditiosum* Minter, Staley et Millar), 6 razy co 3 tygodnie, od 15 czerwca do 28 września, w dawce 5 kg/ha, w stężeniu 0,5%.
- Euparen 50WP – opryskiwania jak na szarą pleśń (*Botrytis cinerea* Pers: Fr.), 4 razy co 5 dni, od 15 czerwca do 30 czerwca, w dawce 2,5 kg/ha, w stężeniu 0,25%
- Topsin M70 WP – opryskiwania jak na osutki (*L. seeditiosum*), 6 razy co 3 tygodnie, od 15 czerwca do 28 września, w dawce 2 kg/ha, w stężeniu 0,2%
- Zaprawa Funaben T – opryskiwania jak na zgorzel siewek (*Fusarium oxysporum* Schlecht, *Rhizoctonia solani* Kühn), 4 razy co 5 dni, od 15 czerwca do 30 czerwca, w dawce 6 kg/ha, w stężeniu 0,4%.

W końcu października do badań na zawartość ergosterolu pobrano losowo po 4 korzenie siewek (2 z podłoża mikoryzowanego i 2 z niemikoryzowanego) z każdego wariantu doświadczenia w czterech powtórzeniach, łącznie 112 korzeni. Korzenie po umyciu na sitach, analizowano pod mikroskopem stereoskopowym w celu określenia czy występują na nich inne mikoryzy niż te, które utworzył grzyb *H. crustuliniforme*. Następnie odcinano korzenie drobne (<1 mm; w praktyce były to wszystkie korzenie siewek prócz korzenia głównego), ważono je i przechowywano zamrożone do czasu wykonania analiz. Pojedynczą próbkę stanowiły dwa korzenie siewek wyhodowanych na tym samym podłożu.

### Analiza ergosterolu

Ekstrakcję i analizę ergosterolu przeprowadzono według metody podanej przez Nylunda i Wallandera (9), z małymi modyfikacjami. Korzenie (100-200 mg świeżej masy) zamrożono w ciekłym azocie i roztarto w moździerzu na proszek, który przeniesiono do probówek wirówkowych. Próbkę zalano 5 ml 96% etanolu i wytrząsano 2 minuty w temperaturze pokojowej. Następnie próby wirowano przez 15 minut w chłodzie przy 10 000 x g. Płyn nad osadu zbierano, a osad ponownie wytrząsano z 5 ml 96% etanolu i wirowano. Połączone ekstrakty odparowano do sucha w temperaturze 40°C. Suche ekstrakty rozpuszczono w 0,5 ml 100% metanolu i przesączono pod ciśnieniem przez filtr Millipore 0,45 m. Oczyszczone ekstrakty rozdzielano metodą wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC) firmy Waters z detektorem UV, stosując kolumnę Waters Nova-Pak C18

(150x4 mm) i czysty metanol (Baker) jako solwent. Na kolumnę podawano 10-20  $\mu$ l ekstraktu, szybkość przepływu metanolu przez kolumnę – 1,6 ml min<sup>-1</sup>, temperatura kolumny 30°C, pomiar absorpcji – przy 280 nm. Wierzchołek ergosterolu pojawiał się po ok. 3 min. 30 sek. Wzorcem był czysty ergosterol (5,7,22-Ergostatrien-3-ol, Sigma). Ilość ergosterolu w próbach była obliczana na podstawie krzywej wzorcowej przy pomocy programu komputerowego Maxima 820.

## Wyniki i dyskusja

Obserwacje morfologii mikoryz (kształt, kolor i struktura powierzchni mufki grzybniowej) pozwoliły wyróżnić pięć morfotypów:

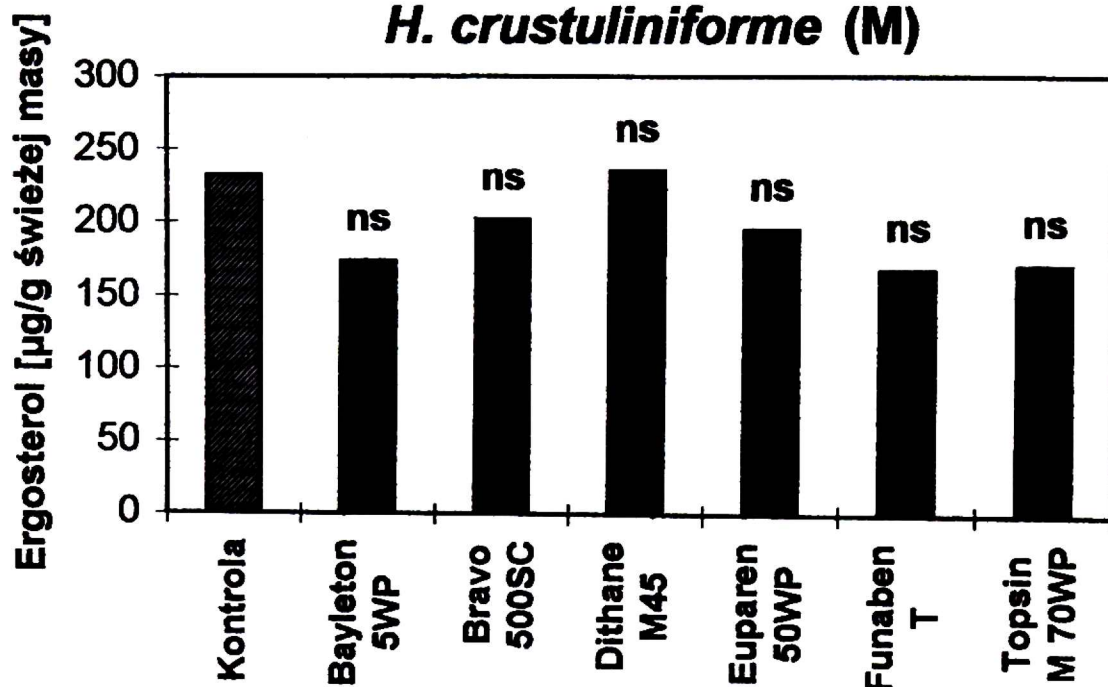
- Mikoryzy z grzybem *H. crustuliniforme* - białe, pojedyncze, rzadziej dichotomicznie rozgałęzione. Mufka z białą grzybnią absorbcyjną.
- Mikoryzy z grzybem *Cenococum geophilum* Fr.- czarne, proste rzadziej dichotomicznie rozgałęzione, pokryte opłisnią z licznymi promieniście odchodzącymi od mufki czarnymi strzępkami. Grzybnia *C. geophilum* pokrywała niekiedy mikoryzy innych typów.
- Mikoryzy barwy jasnokremowej z cienką, gładką mufką, pojedyncze, dichotomicznie i wielokrotnie dichotomicznie rozgałęzione oraz koralowate.
- Mikoryzy brązowe pojedyncze i dichotomicznie rozgałęzione czasami beczułkowato zgrubiałe, powierzchnia mufki gładka.
- Mikoryzy pomarańczowe o bardzo szybko zanikającej barwie, proste i dichotomicznie rozgałęzione oraz typu grono, skrócone, z grubą mufką i obficie odrastającymi od niej szarymi sznurami grzybniowymi.

Mikoryzy z grzybem *H. crustuliniforme* występowały wyłącznie na korzeniach siewek rosnących w podłożu zawierającym szczepionkę mikoryzową (M), a pozostałe morfotypy mikoryz, powstałe w wyniku naturalnej mikoryzacji, obserwowano zarówno na korzeniach siewek mikoryzowanych szczepionką jak i siewek pochodzących z kaset bez szczepionki (C). Naturalnej mikoryzacji siewek sprzyjało położenie szkółki w Rogowie w otoczeniu lasów.

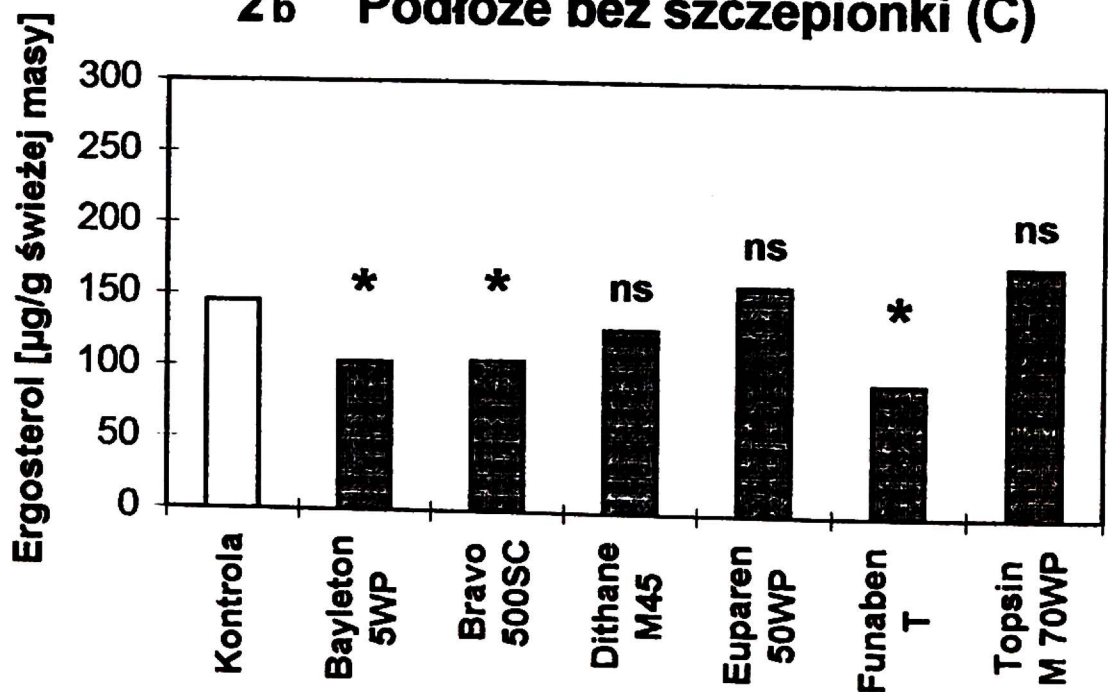
Analizy ergosterolu potwierdziły obecność żywych mikoryz na korzeniach siewek pochodzących ze wszystkich wariantów doświadczenia (ryc. 2). Jednakże średnie stężenie ergosterolu w korzeniach siewek mikoryzowanych grzybem *H. crustuliniforme* (ryc. 2a) było istotnie wyższe od średniego stężenia ergosterolu w korzeniach siewek rosnących na podłożu niemikoryzowanym (ryc. 2b) (ANOVA, P,002).

Johnson i McGill (4) stwierdzili dodatnią zależność między poziomem kolonizacji mikoryzowej a stężeniem ergosterolu w korzeniach siewek *Pinus concorta* inokulowanych grzybnią *H. crustuliniforme*, a Manninen i in. (7) podobną korelację wykazali w korzeniach siewek *Pinus sylvestris*, których mikoryzy pochodziły z naturalnej inokulacji. Wyniki przedstawione w obecnej pracy na ryc. 2 dowodzą, że szczepionka mikoryzowa była skuteczna i znacząco zwiększyła stopień zmikoryzowania korzeni rocznych siewek sosny zwyczajnej.

## 2a Podłoże ze szczepionką *H. crustuliniforme* (M)



## 2b Podłoże bez szczepionki (C)



RYC. 2. Stężenie ergosterolu ( $\mu\text{g g}^{-1}$  świeżej masy) w korzeniach 1-roczych siewek sosny *Pinus sylvestris* rosnących w szkółce leśnej z zamkniętym systemem korzeniowym w podłożu zawierającym szczepionkę mikoryzową z grzybem *Hebeloma crustuliniforme* (ryc. 2a) lub w podłożu bez szczepionki (ryc. 2b). Średnie stężenie ergosterolu w korzeniach siewek mikoryzowanych grzybem *H. crustuliniforme* (ryc. 2a) było istotnie wyższe od średniego stężenia ergosterolu w korzeniach siewek rosnących na podłożu niemikoryzowanym (ryc. 2b) (ANOVA,  $P=0,02$ ). Zawartość ergosterolu w korzeniach siewek traktowanych fungycydami Bayleton 5WP, Bravo 500SC, Dithane M45, Euparen 50 WP, Funaben T i Topsin M 70WP porównano z kontrolą metodą Dunnetta: \* - różnica istotna statystycznie przy  $P=0,05$ ; ns - różnica nieistotna statystycznie; ( $n = 4$ ).

W obecnej pracy zarejestrowano stosunkowo duże różnice w zawartości ergosterolu w obrębie poszczególnych wariantów doświadczenia, szczególnie w przypadku siewek mikoryzowanych grzybem *H. crustuliniforme*. Różnice między powtórzeniami wystąpiły zarówno w wariantach traktowanych fungicydami jak i w korzeniach siewek kontrolnych (np. Topsin – podłoże M: 53,1- 368,4  $\mu\text{g}$  ergosterolu  $\text{g}^{-1}$  świeżej masy, Euparen – podłoże M: 94-362,1  $\mu\text{g}$  ergosterolu  $\text{g}^{-1}$  świeżej masy, kontrola – podłoże M: 171,7-360,3  $\mu\text{g}$  ergosterolu  $\text{g}^{-1}$  świeżej masy). To zróżnicowanie sugeruje, że poszczególne systemy korzeniowe mogą się różnić ilością wierzchołków mikoryzowych i autotroficznych, a udział 5 morfotypów mikoryz (*H. crustuliniforme*, *C. geophilum* i 3 niezidentyfikowane mikoryzy) w kolonizacji korzeni jest nierównomierny. Obserwacje mikroskopowe wykazały, że wyróżnione morfotypy dość znacznie różnią się strukturą (grubość mufki grzybniowej, grzybnia ekstramatrykalna związana z mufką) i w związku z tym mogą zawierać różne ilości ergosterolu. Salmanowicz i Nylund (11) wykazali, że mikoryzy sosny zwyczajnej z grzybem lakówka pospolita *Laccaria laccata* (Scop.: Fr.) Berk. et Br. były silniej rozwinięte i zawierały więcej ergosterolu niż mikoryzy z grzybem *H. crustuliniforme*, mimo że grzybnie wegetatywne obu tych symbiontów hodowane *in vitro* miały podobne stężenie ergosterolu w jednostce masy, a Wallander i in. (14) stwierdzili istotnie wyższe stężenie ergosterolu w wielokrotnie rozgałęzionych mikoryzach (typu grono), o grubej mufce, otoczonych peridermą grzybniową i grubymi sznurami grzybniowymi, w porównaniu z czterema innymi morfotypami mikoryz, o mufkach cieńszych, gładkich lub otoczonych mniej obfitą grzybnią. Zatem ogólna ilość ergosterolu w korzeniach zależy nie tylko od liczby wierzchołków mikoryzowych, ale również od udziału poszczególnych morfotypów w kolonizacji mikoryzowej.

Rycina 2a pokazuje, że siewki mikoryzowane grzybem *H. crustuliniforme* i opryskiwane fungicydami Bayleton, Bravo, Euparen, Funaben i Topsin miały nieznacznie niższe średnie stężenia ergosterolu w korzeniach niż siewki kontrolne. Jednakże analiza wariancji (ANOVA) i porównanie wariantów doświadczenia z kontrolą metodą Dunnetta wykazały, że wpływ fungicydów na stężenia ergosterolu był nieistotny statystycznie. W przypadku siewek, które rosły w podłożu bez szczepionki mikoryzowej (ryc. 2b), opryskiwanie fungicydami Bayleton, Bravo i Funaben istotnie obniżyło stężenie ergosterolu w korzeniach (metoda Dunnetta,  $P=0,05$ ).

W przeglądowym artykule na temat reakcji grzybów mikoryzowych i mikoryz na pestycydy Trappe i in. (13) stwierdzili, że większość fungicydów ma niekorzystny wpływ na wzrost grzybów ektomikoryzowych w czystych kulturach oraz tworzenie ektomikoryz na korzeniach drzew jedynie w wyższych stężeniach. Jednakże różne typy mikoryz mają różną tolerancję na działanie fungicydów. Manninen i in. (7) wykazali, że fungicyd miedziowy (tlenochlorek miedziowy) nie ograniczał tworzenia mikoryz na korzeniach 4-letnich siewek sosny zwyczajnej, a nawet lekko stymulował ich rozwój, natomiast Tilt 250 EC (propikonazol) silnie hamował rozwój dominującego morfotypu (cienkie, jasnobrązowe ektomikoryzy), podczas gdy pozostałe morfotypy były bardziej tolerancyjne. W drugim roku doświadczenia rozwój mikoryz wrażliwych był jeszcze silniej ograniczony przez ten fungicyd, natomiast wzrosła ilość mikoryz tolerancyjnych, a zawartość ergosterolu w korzeniach siewek traktowanych fungicydem i kontrolnych była zbliżona.

W obecnej pracy istotna redukcja ergosterolu w korzeniach siewek rosnących na podłożu bez szczepionki pod wpływem niektórych fungicydów (ryc. 2b) sugeruje, że mikoryzy powstałe w wyniku naturalnej mikoryzacji (typ *C. geophilum* oraz trzy niezidentyfikowane morfotypy) mogą być bardziej wrażliwe na fungicydy niż grzyb *H. crustuliniforme*. Nasze wyniki są zgodne z wynikami testów prowadzonych w czystych kulturach (5, 6), które wykazały, że grzyb *C. geophilum* jest bardziej wrażliwy na działanie różnych fungicydów (benomyl, chlorotalonil, tlenochlorek miedziowy, propikonazol) niż inne gatunki grzybów ektomikoryzowych, a grzyb *Hebeloma* spp. jest bardziej tolerancyjny w stosunku do fungicydów chlorotalonil i propiconazole niż muchomor czerwony *Amanita muscaria* (L.: Fr.).

Wyniki obecnych badań pokazały, że opryskiwanie rocznych siewek sosny mikoryzowanych szczepionką mikoryzową z grzybem *H. crustuliniforme* fungicydami nie wpływa istotnie na ilość żywej grzybni mikoryzowej w korzeniach. Informacji na temat udziału mikoryz z grzybem *H. crustuliniforme* i mikoryz pochodzących z naturalnych inokulacji w kolonizacji systemów korzeniowych siewek dostarczy druga część pracy, która jest w przygotowaniu.

*Marta Aleksandrowicz-Trzcńska*  
SGGW Katedra Ochrony Lasu i Ekologii  
02-528 Warszawa, ul. Rakowiecka 26/30  
e-mail: les\_kolie@delta.sggw.waw.pl

*Barbara Kieliszewska-Rokicka*  
Instytut Dendrologii PAN  
62-035 Kórnik, ul. Parkowa 5  
e-mail: idkornik@rose.man.poznan.pl

*Autorki dziękują*  
*Panu dr hab. Jackowi Oleksynowi za wykonanie obliczeń statystycznych.*

## Literatura

1. **Borecki Z.:** Nauka o chorobach roślin. Warszawa: PWRiL 1996.
2. **Grzywacz A.:** Chemiczna ochrona szkółek leśnych przed chorobami. Postępy tech. leśn. nr 53, 1993.
3. **Harley J. L., Smith S. E.:** Mycorrhizal Symbiosis. London - New York, Academic Press, 483 str., 1983.
4. **Johnson B. N., McGill W. B.:** Comparison of ergosterol and chitin as quantitative estimates of mycorrhizal infection and *Pinus concerta* seedlings response to inoculation. Can. J. Forest Res. 20: 1125-1131, 1990.
5. **Laatikainen T., Heinonen-Tanski H.:** Are pesticides harmful to ectomycorrhizal fungi. W: Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality, Abstracts from the 2nd International Symposium on Environmental Aspects of Pesticide Microbiology, 7-11.07.1996, Beaune, France, Brussels. Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1996.



6. **Laatikainen T., Heinonen-Tanski H.:** Ergosterol content of ectomycorrhizal mycelia in biodegradation test of fungicides. W: Second International Conference on Mycorrhiza, 5-10.07.1998, Uppsala, Sweden, Programme and Abstracts, str. 104. Swedish University of Agricultural Science, 1998.
7. **Manninen A.-M., Laatikainen T., Holopainen T.:** Condition of Scots pine fine roots and mycorrhiza after fungicide application and low-level ozone exposure in a 2-year field experiment. *Trees* 12: 347-355, 1998.
8. **Markkola A. M., Ohtonen R., Tarvainen O., Ahonen-Jonnarth U.:** Estimates of fungal biomass in Scots pine stands on an urban pollution gradient. *New Phytol.* 131: 139-147, 1995.
9. **Nylund J.-E., Wallander H.:** Ergosterol analysis as a means of quantifying mycorrhizal biomass. W: J. R. Norris, D. J. Read, A. K. Varma (red.), *Methods in Microbiology* 24: 77-88, 1992.
10. Ocena występowania ważniejszych szkodników leśnych i chorób infekcyjnych drzew leśnych w roku 1997 oraz prognoza ich pojawu w roku 1998. Warszawa IBL 1998.
11. **Salmanowicz B., Nylund J.-E.:** High performance liquid chromatography determination of ergosterol as a measure of ectomycorrhizal infection in Scots pine. *Eur. J. For. Path.* 18: 291-298, 1988.
12. **Sung S.-J. S., White L. M., Marx D. H., Otrosina W. J.:** Seasonal ectomycorrhizal fungal biomass development on loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seedlings. *Mycorrhiza* 5: 439-447, 1995.
13. **Trappe J. M., Molina R., Castellano M.:** Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhiza formation to pesticides. *Annu. Rev. Phytopathol.* 22: 331-359, 1984.
14. **Wallander H., Massicotte H. B., Nylund J.-E.:** Seasonal variation in protein, ergosterol and chitin in five morphotypes of *Pinus sylvestris* L. ectomycorrhizae in a mature Swedish forest. *Soil Biol. Biochem.* 29(1): 45-53.

## Summary

### **The impact of fungicides used at forest nursery protection on the development of pine seedling mycorrhiza. Part I. Research on the content of ergosterol in roots**

Scots pine seedlings reared with covered root system on two kinds of substrates with mycorrhizal inoculum containing *Hebeloma crustuliniforme* and without inoculum, were sprayed with fungicides: Beyleton 5WP, Bravo 500S.C., Dithane M45, Euparen 50WP, Topsin M 70WP, preparation ground: Funaben T. The content of ergosterol in seedling roots was adopted as an index for founding a mycorrhiza with the H.

Crustuliniformefungus and 4 other types. No differences statistically significant were found in the content of ergosterol in roots of seedlings taken from different variants of the experiment; this fact pointing out that the level of mycorrhiza in roots did not change significantly as a result of fungicide using.