

Paweł LECH, Anna ŻÓŁCIAK*

WZROST SADZONEK SOSNY ZWYCZAJNEJ I ROZWÓJ RYZOMORF OPIENKI CIEMNEJ W WARUNKACH PODWYŻSZONEJ KONCENTRACJI CO₂ W POWIETRZU

GROWTH OF SCOTS PINE SEEDLINGS AND *ARMILLARIA OSTOYAE*
RHIZOMORPHS UNDER ELEVATED AIR CO₂ CONCENTRATION CONDITIONS

Abstract. Comparative cultivation experiment was carried out to verify the assumed positive dependence of the rate of growth of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings on the elevated (750 ppm) level of CO₂, as well as its negative dependence on the presence of an inoculum of *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink. Eight months after germination, 5 months after the introduction of the *A. ostoyae* inoculum and 4 months after the raising of CO₂ concentrations in the air, most values for the analyzed biometric features of Scots pine seedlings were found to be significantly higher than those in the control CO₂ conditions (ambient air at approximately 380 ppm). Width at the stem base was significantly higher of 0,08 mm, dry mass of roots – of 15,69 mg and dry mass of stem – of 12,01 mg. No effects of the introduced pathogen inoculum on seedling growth were recorded either in the control, or at the elevated CO₂ concentration in the air. In a great majority of seedlings subjected to inoculation, no root contacts with rhizomorphs or infections were noted, except for a very few cases with elevated CO₂ concentration. The production of *A. ostoyae* rhizomorphs was also found to be significantly and positively dependent on higher CO₂ concentration. These initial results indicate that the pathogen-host relationship at elevated CO₂ concentration and longer cultivation time needs further studies with the application of older plants to overcome the experiment's limitations.

Key words: *Armillaria ostoyae*, rhizomorphs, inoculum, Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings, climate change, CO₂.

* Zakład Fitopatologii Leśnej, Instytut Badawczy Leśnictwa, Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn, Polska; P.Lech@ibles.waw.pl

1. WPROWADZENIE

Stężenie dwutlenku węgla w atmosferze wzrosło w ciągu ostatnich 200 lat o około 100 ppm i na przełomie nowego tysiąclecia osiągnęło poziom 380 ppm (Climate Change Information Kit 2002). Do roku 2100 prognozy przewidują dalszy wzrost stężenia CO₂ do około 490–1250 ppm, w zależności od przyjętego wariantu zużycia paliw kopalnych i wdrożonych modeli rozwoju gospodarczego (Climate Change 2001). Podniesienie się koncentracji CO₂ w powietrzu i towarzyszące mu ocieplenie się klimatu zmienia funkcjonowanie całych ekosystemów leśnych. Powoduje zwiększenie natężenia fotosyntezy (Fabiszewski 1995, Vivekanandan i in. 1999) i przyspieszenie tempa przyrostu miazszości drzew, także szybszy wzrost korzeni (Bazzaz 1990). Może również doprowadzić do zmiany warunków wzrostu drzew: poprawy – w przypadku gatunków o wysokich wymaganiach cieplnych, a pogorszenie – w przypadku gatunków o niskich wymaganiach względem temperatury, m.in. sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) (Kowalski 1994, Brzeziecki 1995).

Opieńkowa zgnilizna korzeni jest chorobą wielu gatunków drzew leśnych, jednakże w Polsce największe szkody wyrządza w dojrzałych drzewostanach świerkowych (*Picea abies* Karst.) i uprawach sosny (Żółciak 1999, 2004). Powierzchnia jej występowania wzrosła w ciągu ostatnich 40 lat z 40–60 tys. ha do ponad 200 tys. ha (Kozłowska i in. 1961, Kozłowska i in. 1962, Kozłowska i Brennejzen 1965, Sierota i in. 2005), co sprawia, że jest to choroba o pierwszorzędym znaczeniu ekologicznym i gospodarczym. W przyszłości należy oczekiwać dalszego wzrostu znaczenia choroby (Kolk i in. 1996).

Bogata literatura poświęcona uwarunkowaniom występowania opieniek w środowisku leśnym tylko w niewielkim zakresie odnosi się do znaczenia podwyższonej koncentracji CO₂ i ocieplania się klimatu. Stwierdzono stymulujący wpływ podwyższonej koncentracji CO₂ na wzrost ryzomorf (Hintikka 1974). Wykazano także zdolność grzybów rozkładających drewno, w tym opieniek, do asymilacji dwutlenku węgla z atmosfery (Schinner i Concin 1981), co oznacza, że poziom koncentracji CO₂ w powietrzu wpływa na intensywność tego procesu. Zauważono również, że zmiany klimatyczne, objawiające się wydłużeniem sezonu wegetacyjnego, wzrostem sumy opadów, podwyższeniem średniej temperatury zimy mogą zwiększać potencjał infekcyjny opieniek (Rykowski 1984).

Przewidywane zmiany klimatyczne oznaczają ukształtowanie się nowych i nierozpoznanych dotychczas relacji drzewo (gospodarz) – patogen. Próba ich poznania była zasadniczym celem podjętych badań*. Doświadczenia prowadzono na siewkach sosnowych, organizmach młodych, które najszybciej reagują na zmiany w środowisku swojego wzrostu. Założono, że podwyższone stężenie CO₂ w

* Artykuł przygotowany w ramach realizacji grantu MNiI (KBN) nr 6P06L 028 21.

powietrzu stymulować będzie wzrost sadzonek oraz predysponować korzenie na infekcje ze strony patogenicznej opieńki ciemnej.

2. MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

2.1. Materiał roślinny i izolat opieńki użyty w doświadczeniu

W doświadczeniu użyto siewek sosny zwyczajnej (*P. sylvestris*). Materiał nasienny uzyskano z Leśnego Banku Genów w Kostrzycy. Nasiona pochodziły z dwóch drzew doborowych: 314 (pochodzenie Bolewice, mikroregion 306, Kraina III Wielkopolsko-Pomorska) i 1705 (pochodzenie Susz, mikroregion 106, Kraina I Bałtycka). Wyboru drzew doborowych dokonano na podstawie wyników badań proveniencyjnych (Giertych 1997, Kowalczyk 1999, Korczyk 2002). Za kryterium ich wyboru przyjęto tempo wzrostu (przyrost wysokości i grubości) oraz jakość hodowlaną.

Do hodowli siewek użyto pojemników o objętości 125 ml typu „rootainers” oraz podłoża ze słabo kwaśnego torfu (pH 5,5) zmieszanego z Agra-Vermiculite w proporcji 1:1. Podlegało ono sterylizacji w temperaturze 118°C przez 1 godzinę, przy ciśnieniu 0,08 MPa. Kiełkowanie i hodowla sadzonek odbywała się w ko-



Fot. 1. Komory klimatyczne Mytron WB 750 oraz kontroler MKS Instruments 647 B do sterowania dopływem CO₂, wykorzystane w hodowli porównawczej sadzonek sosny zwyczajnej (fot. P. Lech)

Photo 1. Mytron WB 750 climatic chambers and a B-647 Controller (MKS Instruments) to control CO₂ inflow used in a comparative cultivation experiment of Scots pine seedlings (photo P. Lech)



Fot. 2. Wprowadzanie inokulum opieńki ciemnej do pojemników z sadzonkami sosny (fot. A. Żółciak)

Photo 2. Placing the *Armillaria ostoyae* inoculum in the containers with pine seedlings (photo A. Żółciak)

morach klimatycznych (Mytron WB 750), w stałych i kontrolowanych warunkach: 25°C, 75% RH, 16/8 rytmie dobowym dzień/noc oraz przy około 30% wilgotności podłoża. Poziom koncentracji CO₂ w komorze sterowano za pomocą kontrolera B-647 (MKS Instruments) (fot. 1). Zastosowano techniczny CO₂ o czystości wynoszącej 99,99%.

Próbie sztucznej inokulacji sadzonek sosny opieńką ciemną przeprowadzono zgodnie z metodyką opisaną przez Guillaumin'a i Rykowskiego (1980). Inokulum przygotowano z odcinków gałęzi dębu szypułkowego o długości 6–8 cm i średnicy około 1 cm, bez wad technicznych i bocznych odgałęzień. Po umyciu i sterylizacji w autoklawie w temperaturze 107°C przez 45 minut i przy ciśnieniu 0,05 MPa, włożono je do szklanych słoików i zalano wodnym wyciągiem z pomidorów i ponownie sterylizowano w autoklawie. Następnie próbki drewna kolonizowano grzybnia izolatu i inkubowano w temperaturze 24°C przez 12 tygodni. Tak przygotowane inokulum wprowadzono do pojemników w pobliżu szyi korzeniowej siewek sosny (fot. 2). W doświadczeniu użyto izolatu opieńki ciemnej pozyskanego z szyi korzeniowej 5-letniej zmarłej sosny w uprawie sosnowej w Nadleśnictwie Chojnów w czerwcu 2001 roku.

2.2. Metodyka doświadczenia

Doświadczenie przeprowadzono na 128 sadzonkach, w 4 wariantach [po 32 powtórzenia (sadzonki) w każdym], uwzględniając 2 czynniki zmienności – obecność (lub brak) inokulum opieńki ciemnej oraz poziom koncentracji CO₂ w powietrzu:

– sadzonki w pojemnikach, wolne od inokulum opieńki, kontrolny poziom CO₂ w powietrzu (około 380 ppm) przez cały okres trwania hodowli sadzonek (34 tygodnie);

– inokulum opieńki ciemnej wprowadzone do pojemników z sadzonkami sosny w 14 tygodniu po wysiewie nasion, kontrolny poziom CO₂ w powietrzu przez cały okres trwania hodowli sadzonek (34 tygodnie);



Fot. 3. Inokulum opieńki ciemnej z silnie (A) i słabo (B) rozwijającymi się ryzomorfami (po 21 tygodniach od wprowadzenia inokulum do pojemników z sadzonkami) (fot. P. Lech)

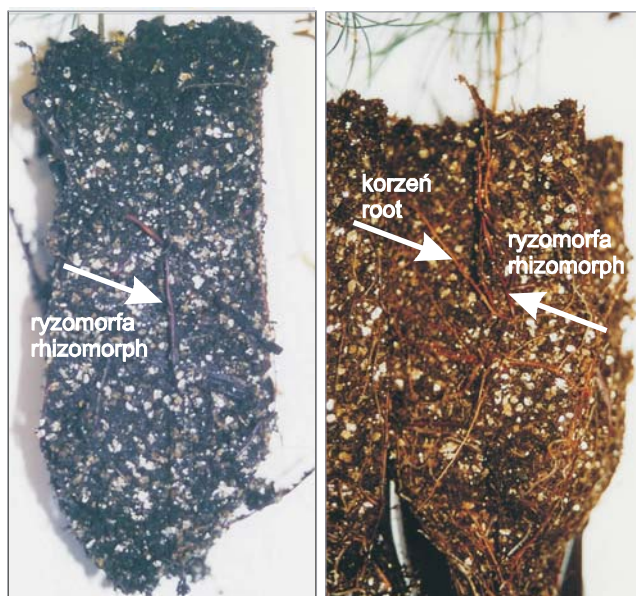
Photo 3. *Armillaria ostoyae* inoculum with strongly (A) and poorly (B) growing rhizomorphes (21 weeks after placing the inoculum in the containers with seedlings (photo P. Lech)

- sadzonki w pojemnikach wolne od inokulum opieńki, podwyższony poziom CO₂ w powietrzu (750 ppm) począwszy od 17 tygodnia po wysiewie nasion;
- inokulum opieńki ciemnej wprowadzone do pojemników w 14 tygodniu po wysiewie nasion, podwyższony poziom CO₂ w powietrzu począwszy od 17 tygodnia po wysiewie nasion.

Oświetlenie oraz nawadnianie we wszystkich wariantach było takie samo.

Przed zastosowaniem w wybranych wariantach podwyższonej koncentracji CO₂ w powietrzu wykonano pomiar wysokości wszystkich sadzonek (z dokładnością do 1 mm). Następnie po zakończeniu wzrostu (8 miesięcy po wysiewie nasion) ponownie wykonano pomiar wysokości sadzonek oraz następujących cech biometrycznych we wszystkich wariantach hodowli: grubości pędu w szyi korzeniowej (z dokładnością do 0,01 mm), suchej masy korzeni, igieł oraz części nadziemnej sadzonek (z dokładnością do 0,1 mg). W tym samym czasie przeprowadzono także wizualną ocenę rozwoju ryzomorf opieńki ciemnej. Określono liczbę pojemników, w których ryzomorfy nie rozwinęły się, rozwinęły się w stopniu słabym (do 10 ryzomorf wyrastających z inokulum) oraz silnym (powyżej 10 ryzomorf wyrastających z inokulum) (fot. 3). Nie wykonano dokładnych pomiarów cech biometrycznych ryzomorf (długości, suchej masy oraz liczby aktywnych szczytów) ze względu na zniszczenie wielu fragmentów ryzomorf w trakcie wyjmowania sadzonek z torfowego podłoża silnie przerośniętego przez korzenie sadzonek i ryzomorfy (fot. 4).

Statystyczną ocenę zmienności cech biometrycznych sadzonek sosny w zależności od zastosowanych czynników doświadczenia (wprowadzenie inokulum opieńki ciemnej i koncentracja CO₂ w powietrzu) oraz wpływu rozwoju ryzomorf



Fot. 4. Ryzomorfy opieńki ciemnej rozwijające się w pojemniku z sadzonką sosny (10 tygodni po wprowadzeniu inokulum) (fot. P. Lech)

Photo 4. *Armillaria ostoyae* rhizomorphs growing in the container with pine (10 weeks after placing the inoculum)(photo P. Lech)

na wzrost sadzonki przeprowadzono za pomocą jedno- i dwuczynnikowej analizy wariancji. Natomiast rozwój ryzomorf w zależności od zastosowanego poziomu CO₂ w powietrzu analizowano stosując tablice kontyngencji oraz obliczając szereg statystyk, w tym test niezależności χ^2 do oceny związków pomiędzy kolumnami i wierszami tabeli. Obliczenia i wykresy wykonano przy użyciu programu Statgraphics Plus 5.1.

3. WYNIKI

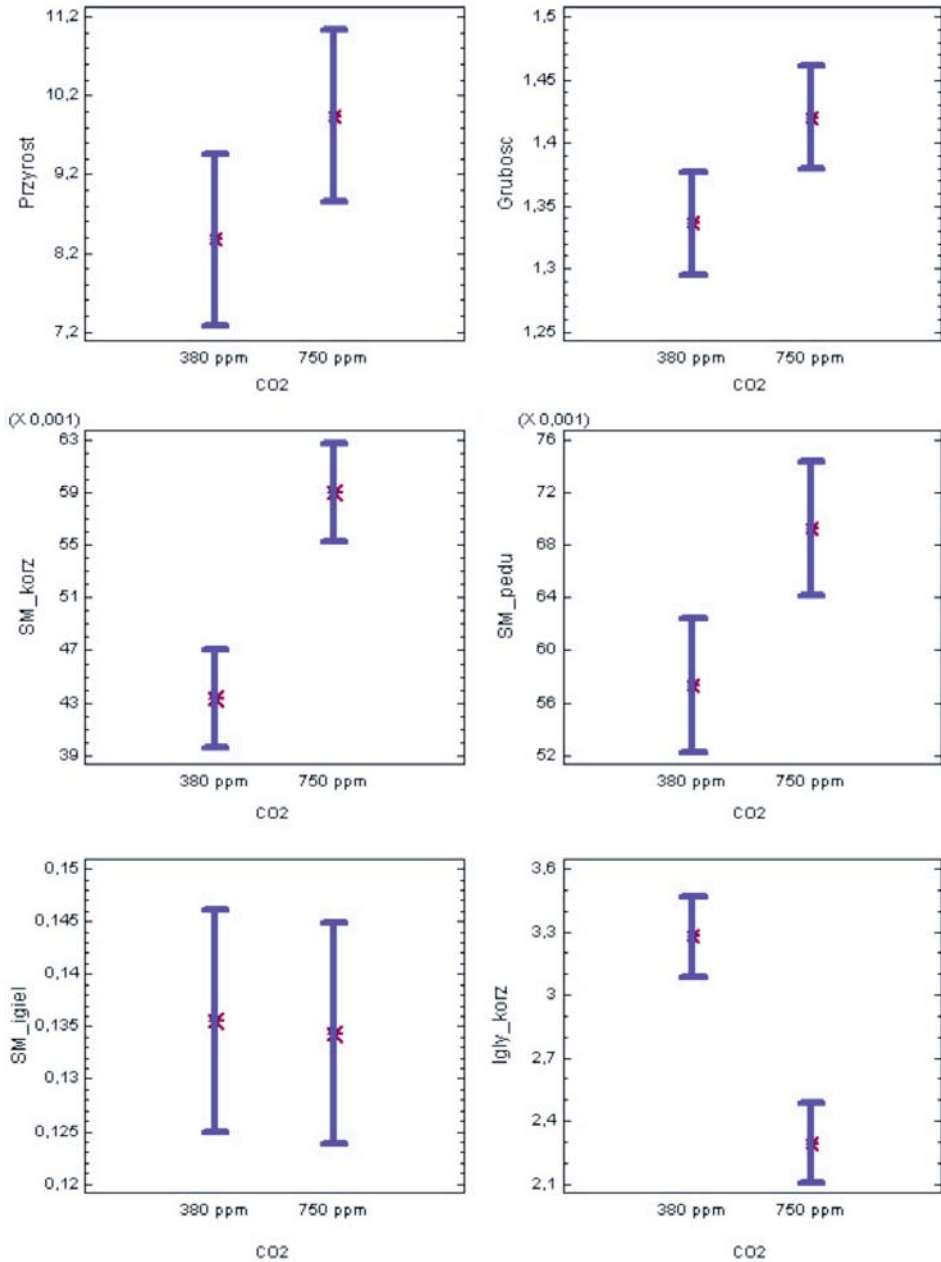
3.1. Wpływ podwyższonej koncentracji CO₂ w powietrzu na wzrost sadzonek sosny zwyczajnej

Sadzonki rosnące w warunkach koncentracji CO₂ w powietrzu podniesionej do 750 ppm cechowały się większą średnią wartością przyrostu wysokości (o 1,57 mm), grubości pędu w szyi korzeniowej (o 0,08 mm), suchej masy korzeni (o 15,69 mg), suchej masy pędu (o 12,01 mg) oraz zmniejszoną suchą masą igieł (1,23 mg) i niższym stosunkiem suchej masy igieł do suchej masy korzeni (o 0,99) w porównaniu do sadzonek rosnących w kontrolnym stężeniu CO₂ w powietrzu (tab. 1). Wykonana analiza wariancji wykazała, że w przypadku grubości w szyi korzeniowej, suchej masy korzeni, suchej masy pędu oraz stosunku suchej masy igieł

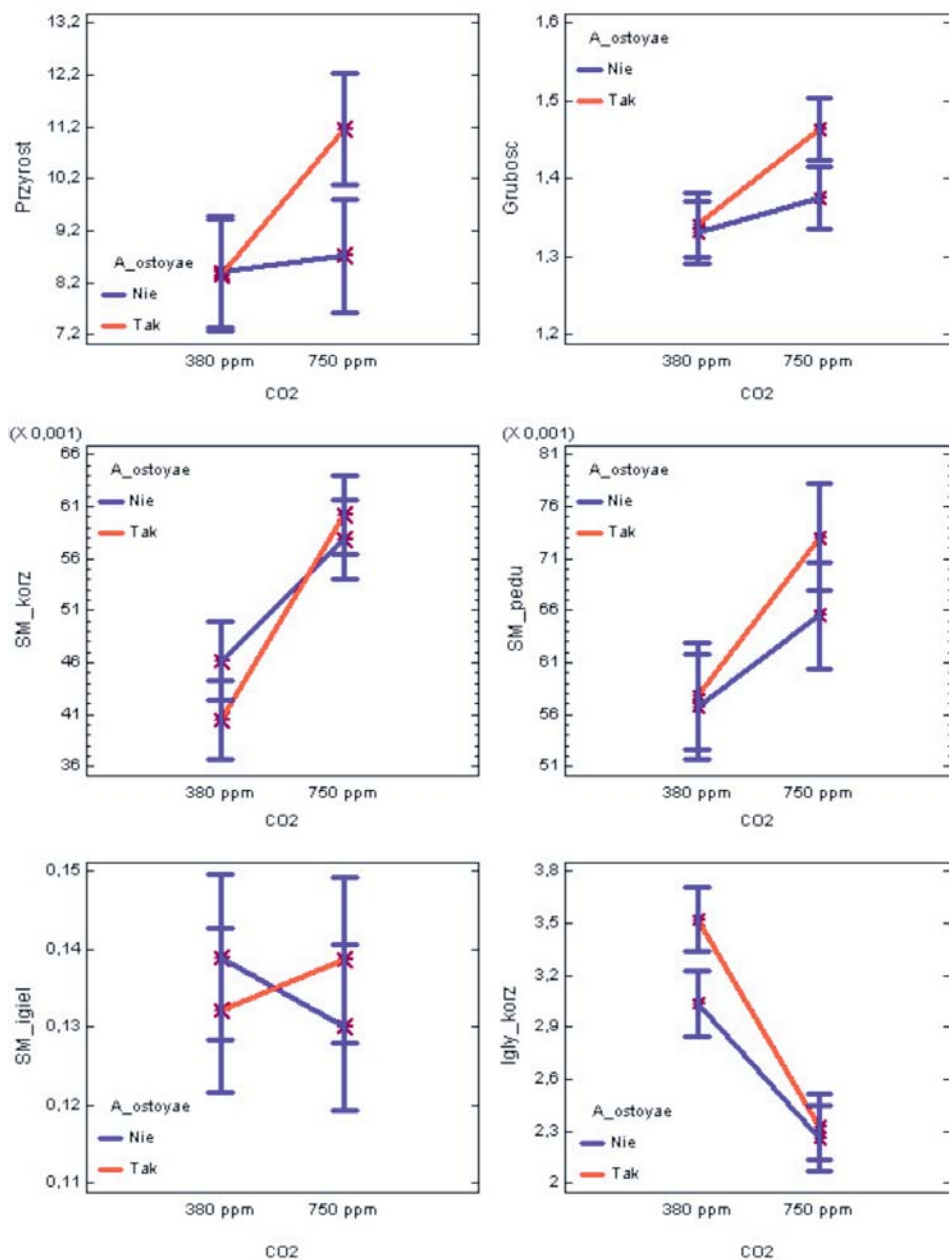
Tabela 1. Wartości parametrów biometrycznych sadzonek sosny w wariantach doświadczenia
 Table 1. Values of biometric parameters of pine seedlings in variants of the experiment

Parametry biometryczne Biometric parameters	Warianty doświadczenia Variants of the experiment						Razem/średnio Total/average
	380 ppm CO ₂			750 ppm CO ₂			
	Inokulowane Inoculated	Nie inokulowane Not inoculated	Razem/średnio Total/average	Inokulowane Inoculated	Nie inokulowane Not inoculated	Razem/średnio Total/average	
Liczba sadzonek [szt.] Number of seedlings [indivs.]	32	32	64	32	32	64	128
Przyrost wysokości Height growth [mm]	8,34	8,41	8,37	11,16	8,72	9,94	9,16
Grubość w szyi korzeniowej Diameter in root collar [mm]	1,34	1,33	1,34	1,46	1,38	1,42	1,38
Sucha masa korzeni Root dry mass [mg]	40,47	46,17	43,32	60,19	57,83	59,01	51,16
Sucha masa pędu Shoot dry mass [mg]	57,81	56,77	57,29	73,04	65,56	69,30	63,29
Sucha masa igieł Needle dry mass [mg]	132,22	138,96	135,56	138,65	130,02	134,33	134,95
Sucha masa igieł/sucha masa korzeni Needle dry mass/ Root dry mass	3,52	3,03	3,28	2,33	2,26	2,29	2,78

do suchej masy korzeni różnice wartości średnich pomiędzy sadzonkami rosnącymi w warunkach kontrolnego i podwyższonego stężenia CO₂ w powietrzu były statystycznie istotne, w przypadku zaś przyrostu wysokości i suchej masy igieł – niewielkie i statystycznie nieistotne (ryc. 1). Analiza interakcji: koncentracja CO₂ w powietrzu × obecność inokulum opieńki ciemnej w pojemniku z sadzonką sosny (ryc. 2) wykazała jednak, że również w przypadku przyrostu wysokości wystąpił statystycznie istotny wzrost wartości tego parametru u sadzonek sosny rosnących w atmosferze wzbogaconej w CO₂, ale tylko w odniesieniu do roślin rosnących w obecności inokulum opieńki ciemnej w pojemniku. W przypadku sadzonek rosnących w pojemnikach wolnych od obecności inokulum patogena ten wzrost był minimalny i bez znaczenia. Podobnie było także w przypadku grubości pędu w szyi korzeniowej i suchej masy pędu. Natomiast statystycznie istotny wzrost wartości suchej masy korzeni cechował sadzonki, zarówno inokulowane, jak i wolne od obecności inokulum w pojemniku, rosnące w warunkach podwyższonej koncentracji CO₂ w powietrzu. Również statystycznie istotnie niższy był stosunek suchej masy igieł do suchej masy korzeni w warunkach podwyższonej koncentracji CO₂, bez względu na to, czy przeprowadzono inokulację, czy też nie.



Ryc 1. Średnie wartości parametrów biometrycznych i 95% przedziały ufności dla siewek sosny hodowanych w podwyższonej (750 ppm) i kontrolnej (380 ppm) koncentracji CO₂ w powietrzu Fig.1. Mean values of biometric parameters and 95% confidence intervals for pine seedlings grown in the elevated (750 ppm) and controlled (380 ppm) CO₂ concentrations in the air: SM_igiel – dry mass of needle, SM_korz – dry mass of roots, Przyrost – height growth, Igly_korz – needle dry mass/root dry, SM_pedu – dry mass of shoot, Grubosc – diameter at root collar



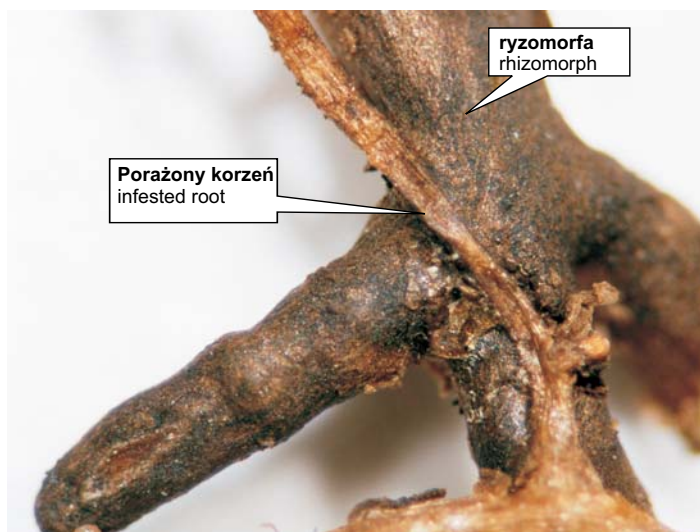
Ryc 2. Interakcja: koncentracja CO₂ w powietrzu × obecność inokulum opieńki ciemnej, oraz 95% przedział ufności dla analizowanych parametrów biometrycznych sadzonek sosny zwyczajnej

Fig. 2. Interaction: CO₂ concentration in the air × presence of *Armillaria ostoyae* inoculum and 95% confidence intervals for the analyzed biometric parameters of Scots pine seedlings. Designations Axis X as in the figure 1

3.2. Wpływ obecności inokulum opieńki ciemnej i rozwoju ryzomorf na wzrost sadzonek sosny zwyczajnej

Przeprowadzony zabieg inokulacji okazał się skuteczny w przypadku jednej sadzonki – wystąpiło porażenie oraz zamarcie fragmentu korzenia (fot. 5), w dwu kolejnych przypadkach stwierdzono fizyczny kontakt ryzomorf patogena z korzeniami, ale do porażenia nie doszło. W większości przypadków wprowadzonych inokulów stwierdzono jednak rozwój ryzomorf (niekiedy bardzo intensywny), dlatego też przeprowadzono analizy statystyczne mające wykazać, czy wprowadzenie inokulów do pojemników i rozwój ryzomorf patogena w sąsiedztwie systemów korzeniowych miał wpływ na wzrost sadzonek sosny zwyczajnej.

Sadzonki rosnące w pojemnikach, do których wprowadzono inokulum opieńki ciemnej, cechowały się większą przeciętną grubością pędu w szyi korzeniowej, większą suchą masą pędu i większym stosunkiem suchej masy igieł do suchej masy korzeni, bez względu na koncentrację CO₂ w powietrzu (tab. 2). Natomiast przyrost wysokości, sucha masa korzeni oraz sucha masa igieł u sadzonek rosnących bez obecności inokulum w pojemniku były mniejsze przy podwyższonym stężeniu CO₂, a większe, gdy stosowano kontrolne stężenie dwutlenku węgla w powietrzu. Statystyczną istotność różnic pomiędzy średnimi w zależności od wprowadzenia inokulum opieńki ciemnej do pojemników z sadzonkami sosny oraz rozwoju ryzomorf stwierdzono jedynie w przypadku stosunku suchej masy igieł do suchej masy korzeni i to tylko u sadzonek rosnących w kontrolnym stężeniu CO₂ (ryc. 3). W przypadku pozostałych analizowanych cech biometrycznych sadzonek nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu wprowadzenia inokulum opieńki ciemnej do pojemników, ani w przypadku sadzonek hodowanych w kontrolnej, ani też



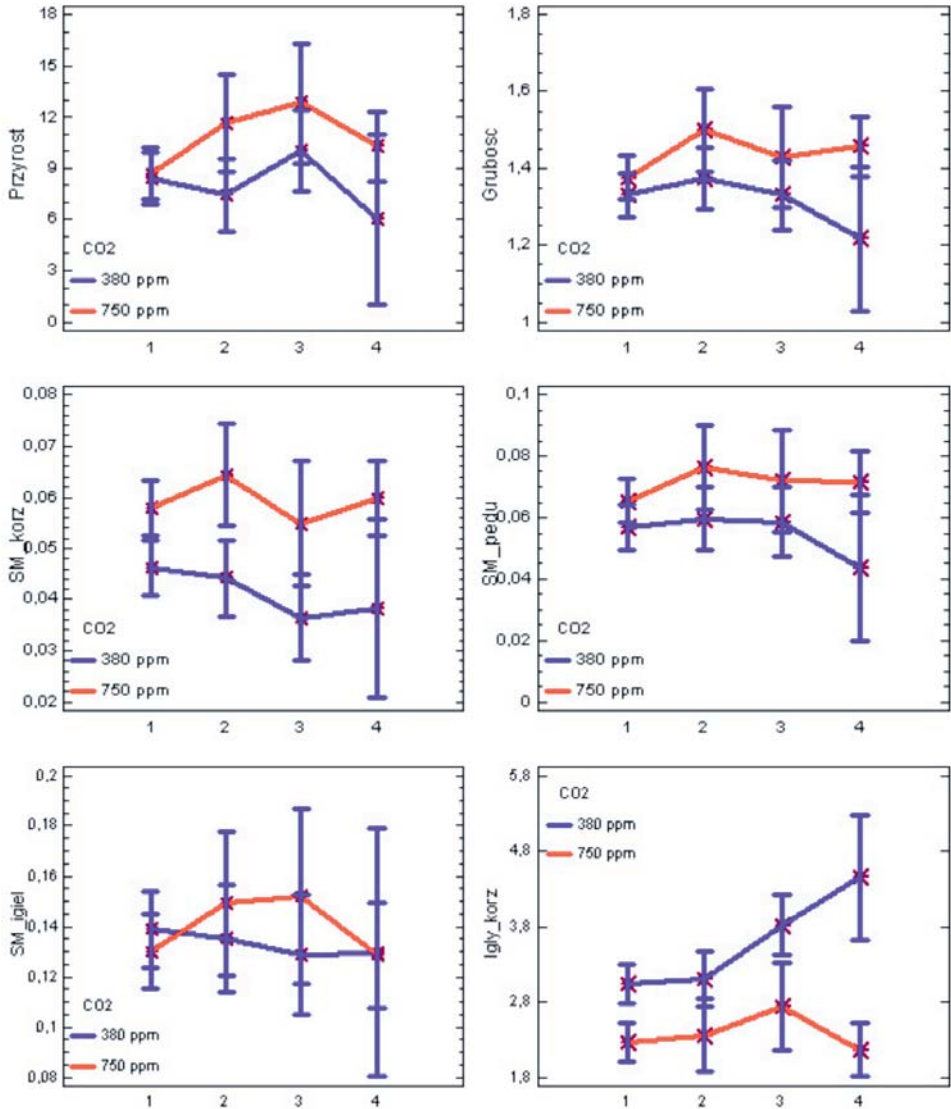
Fot. 5. Korzeń sadzonki sosny zwyczajnej porażony przez ryzomorfę opieńki ciemnej (fot. P. Lech)
Photo 5. The root of a Scots pine seedling colonized by a *Armillaria ostoyae* rhizomorpha (photo P. Lech)

Tabela 2. Wielkość parametrów biometrycznych sadzonek sosny w zależności od obecności inokulum opieńki ciemnej w pojemniku i stopnia rozwoju ryzomorf oraz koncentracji CO₂ w powietrzu

Table 2. The value of biometric parameters of pine seedlings depending on the presence of the *Armillaria ostoyae* inoculum in the containers, the degree of development of rhizomorphs and CO₂ concentration in the air

Parametry biometryczne Biometric parameters	Sadzonki Seedlings					Razem/ średnio Total/ average
	nie inokulowane not inoculated	inokulowane inoculated			razem/ średnio total/ average	
		brak ryzomorf lack of rhizomorphs	rozwój ryzomorf rhizomorph development			
			słaby poor	silny strong		
380 ppm CO ₂						
Liczba sadzonek [szt.] Number of seedlings [indvs.]	32	16	13	3	32	64
Przyrost wysokości Height growth [mm]	8,41	7,44	10,00	6,00	8,34	8,37
Grubość w szyi korzeniowej Diameter in root collar [mm]	1,33	1,37	1,33	1,22	1,34	1,34
Sucha masa korzeni Root dry mass [mg]	46,17	44,16	36,44	38,23	40,47	43,32
Sucha masa pędu Shoot dry mass [mg]	56,77	59,75	58,68	43,70	57,81	57,29
Sucha masa igieł Needle dry mass [mg]	138,96	135,25	128,98	129,57	132,17	135,56
Sucha masa igieł/sucha masa korzeni Needle dry mass/ Root dry mass	3,03	3,10	3,82	4,45	3,52	3,28
750 ppm CO ₂						
Liczba sadzonek [szt.] Number of seedlings [indvs.]	32	9	6	17	32	64
Przyrost wysokości Height growth [mm]	8,72	11,67	12,83	10,29	11,16	9,94
Grubość w szyi korzeniowej Diameter in root collar [mm]	1,38	1,50	1,43	1,46	1,46	1,42
Sucha masa korzeni Root dry mass [mg]	57,83	64,22	54,83	59,90	60,19	59,01
Sucha masa pędu Shoot dry mass [mg]	65,56	76,18	71,92	71,77	73,04	69,30
Sucha masa igieł Needle dry mass [mg]	130,02	149,14	151,87	128,43	138,65	134,33
Sucha masa igieł/sucha masa korzeni Needle dry mass/ Root dry mass	2,26	2,36	2,74	2,17	2,33	2,29

w podwyższonej koncentracji CO₂ w powietrzu. Zbliżony układ wartości średnich wszystkich analizowanych cech i parametrów biometrycznych stwierdzono dla grup sadzonek wyróżnionych wg kryterium przeprowadzenia inokulacji i rozwoju ryzomorf, a rosnących w warunkach kontrolnych i podniesionych stężeń CO₂ w powietrzu. W tym drugim przypadku średnie były większe, w odniesieniu do



Ryc. 3. Interakcja: koncentracja CO₂ w powietrzu × rozwój ryzomorf (1 – brak inokulum w pojemniku z sadzonką, 2 – brak ryzomorf, 3 – słaby rozwój ryzomorf, 4 – silny rozwój ryzomorf), oraz 95% przedział ufności dla analizowanych parametrów biometrycznych sadzonek sosny zwyczajnej

Fig. 3. Interaction: CO₂ concentration in the air × rhizomorph development (1 – lack of inoculum in containers with seedlings, 2 – lack of rhizomorphs, 3 – poor development of rhizomorphs, 4 – strong development of rhizomorphs) and 95% confidence interval for the analysed biometric parameters of Scots pine seedlings. Designations Axis X as in the figure 1

Tabela 3. Stopień rozwoju ryzomorf opieńki ciemnej w ciągu 5 miesięcy po wprowadzeniu inokulum do pojemników z sadzonkami w zależności od koncentracji CO₂ w powietrzuTable 3. The degree of the *Armillaria ostoyae* development during 5 months after placing the *Armillaria ostoyae* inoculum in the containers with seedlings depending on CO₂ concentration in the air

Stężenie CO ₂ w powietrzu CO ₂ concentration in the air	Liczba sadzonek Number of seedlings	Brak ryzomorf Lack of rhizomorphs		Stopień rozwoju ryzomorf opieńki Degree of the rhizomorph development					
				słaby poor		silny strong		łącznie total	
ppm	szt. indivs.	szt. indivs.	%	szt. indivs.	%	szt. indivs.	%	szt. indivs.	%
380	32	16	50,00	13	40,62	3	9,38	16	50,00
750	32	9	28,12	6	18,76	17	53,12	23	71,88
Razem Total	64	25	39,06	19	29,69	20	31,25	39	60,94

suchej masy korzeni, pędu oraz stosunku suchej masy korzeni do suchej masy igieł – w sposób statystycznie istotny. Wskazuje to jednoznacznie na brak wpływu obecności inokulum opieńki ciemnej w pojemniku na wzrost sadzonek sosny zwyczajnej oraz potwierdza znaczący wpływ zwiększenia koncentracji dwutlenku węgla w powietrzu.

3.3. Wpływ podwyższonej koncentracji CO₂ w powietrzu na rozwój ryzomorf opieńki ciemnej

Podwyższenie koncentracji CO₂ w powietrzu do 750 ppm stymulowało formowanie się i wzrost ryzomorf opieńki ciemnej w warunkach laboratoryjnych. W kontrolnym stężeniu CO₂ w przypadku 50% inokulów nie stwierdzono rozwoju ryzomorf, natomiast dla podwyższonej do 750 ppm koncentracji dwutlenku węgla w powietrzu wartość ta była niższa i wynosiła 28% (tab. 3). Słaby rozwój ryzomorf cechował 19% inokulów z warunków zwiększonej koncentracji CO₂ w powietrzu oraz 40% z warunków kontrolnych. Z kolei silny rozwój ryzomorf cechował 53% inokulów w wariantach z symulowanymi zmianami klimatycznymi oraz tylko 10% inokulów w wariantach kontrolnych. Także kontakty ryzomorf z korzeniami sadzonek (2 przypadki) i ich porażenie (korzeń 1 sadzonki) stwierdzono wyłącznie u inokulów rozwijających się w warunkach podwyższonego stężenia CO₂.

Różnice w rozwoju ryzomorf pomiędzy inokulami znajdującymi się w komorach z kontrolną i podwyższoną koncentracją CO₂ były statystycznie istotne, co wykazały wyniki analizy tablic kontyngencji (tab. 4). Obliczona statystyka lambda z wierszami zależnymi wyniosła 0,437, a z zależnymi rzędami – 0,205. Również wskaźnik kontyngencji osiągnął wysoką wartość (0,428), co wskazuje na silny związek pomiędzy zastosowaniem podwyższonej koncentracji CO₂ a stopniem rozwoju ryzomorf. Test χ^2 dał podobny wynik (14,34; poziom istotności p=0,0008).

Tabela 4. Wyniki analizy tablic kontyngencji oceny wpływu koncentracji CO₂ w powietrzu na stopień rozwoju ryzomorf opieńki ciemnej w ciągu 5 miesięcy po wprowadzeniu inokulumu do pojemników z sadzonkami

Table 4. Results of a contingency table analysis for the assessment of the impact of air CO₂ concentrations on the degree of *Armillaria ostoyae* rhizomorph development during 5 months after placing the *Armillaria ostoyae* inoculum in the containers with seedlings

Statystyka Statistics	Symetryczność Symmetry	Rzędy zależne Dependent rows	Kolumny zależne Dependent columns
λ (lambda)	0,3099	0,4375	0,2051
Współczynnik niepewności Uncertainty coefficient	0,1352	0,1741	0,1106
D Somersa Somers' D	-0,3590	-0,3151	-0,4170
ξ Eta		0,4733	0,3930
	Wartość Value	P	Stopnie swobody Degree of freedom
Współczynnik kontyngencji Contingency coefficient	0,4278		
V Cramera Cramer's V	0,4733		
γ (warunkowe Gamma) γ (conditional Gamma)	-0,5686		
R Pearsona Pearson's R	-0,3930	0,0007	62
τ_B (Tau b Kendalla) (Kendall's Tau-b)	-0,3625	0,0023	
τ_C (Tau c Kendalla) τ_C (Kendall's Tau-c)	-0,4170		
χ^2 (test Chi-kwadrat) χ^2 (Chi-square test)	14,34	0,0008	2

4. DYSKUSJA

Podniesienie koncentracji dwutlenku węgla w powietrzu do 750 ppm stymulowało wzrost ryzomorf opieńki ciemnej. Kontakty ryzomorf z korzeniami i infekcje zaobserwowano wyłącznie u sadzonek hodowanych w warunkach podniesionej koncentracji CO₂. Wyniki te odpowiadają rezultatom doświadczeń Hintikka (1974), który wykazał pozytywny wpływ podniesionych stężeń CO₂ na wzrost ryzomorf. Mechanizm tego zjawiska nie jest jeszcze dostatecznie poznany, jednakże być może wiązać go można ze zdolnością opieńki do wiązania atmosferycznego CO₂ i pozyskiwania tą drogą węgla wykorzystywanego w procesach wzrostu (Schinner i Concini, 1981). Oznaczałoby to, że należy oczekiwać dalszego wzrostu zagrożenia lasów ze strony opieńkowej zgnilizny korzeni wraz z progno-

zowanym wzrostem koncentracji dwutlenku węgla w powietrzu. Można by również przypuszczać, że wzrost koncentracji CO₂, który obserwowano w ostatnich dwu stuleciach (Climate Change 2001), jest jedną z przyczyn dotychczasowego wzrostu powierzchni występowania tej choroby w lasach.

Obecność inokulum opieńki ciemnej w pojemnikach z sadzonkami sosny zwyczajnej nie wpłynęła w znaczący sposób na wzrost roślin w warunkach laboratoryjnych w okresie pierwszych 5 miesięcy, co wyraziło się małymi i nieistotnymi statystycznie różnicami pomiędzy średnimi analizowanych cech biometrycznych sadzonek rosnących w obecności inokulum opieńki ciemnej i wolnych od obecności patogena. Fakt, że przypadki kontaktu ryzomorf opieńki z korzeniami były nieliczne, prawdopodobnie był skutkiem młodego wieku sadzonek oraz niewielkich rozmiarów ich systemu korzeniowego oraz zbyt krótkiego czasu trwania doświadczenia (jeden sezon wegetacyjny), by można było oczekiwać masowych infekcji. Dane literaturowe wskazują na możliwość zasiedlania i zabijania przez *A. ostoyae* młodych sosen (Rykowski 1990), nie wspomina się jednak o siewkach i jednorocznych sadzonkach.

Przeprowadzone badania wykazały stymulujący wpływ podwyższonej koncentracji CO₂ na wzrost sadzonek sosny. Wyraziło się to zwiększonymi wartościami średnich takich parametrów biometrycznych jak przyrost wysokości, grubość pędu w szyi korzeniowej, sucha masa korzeni i pędu. Jedynie sucha masa igieł oraz stosunek suchej masy igieł do suchej masy pędu były większe w przypadku sadzonek rosnących w kontrolnej koncentracji CO₂ w powietrzu. Sądzić należy, że było to wyrazem prawidłowości: większe stężenie CO₂ = wyższa intensywność fotosyntezy = większy przyrost biomasy, którą potwierdza wiele prac eksperymentalnych (Bazzaz 1990, Fabiszewski 1995, Vivekanandan i in. 1999).

Określenie podatności sadzonek na infekcje ze strony *A. ostoyae* w warunkach podwyższonej koncentracji CO₂ nie powiodło się z uwagi na sporadyczne infekcje korzeni. Jednakże zupełny brak infekcji korzeni w kontrolnych stężeniach CO₂ wskazuje, że podatność sadzonek sosny na infekcje może być w pozytywnej zależności względem rosnącego stężenia dwutlenku węgla w atmosferze. W warunkach naturalnych ta podatność kształtowana jest przez wiele czynników, w tym m.in. przez konkurencję pokarmową.

Przewidywane i obserwowane ocieplenie klimatu może faworyzować gatunki ciepłolubne i pogarszać warunki wzrostu większości gatunków iglastych (Kowalski 1994, Brzeziecki 1995), co dodatkowo może wzmacniać podatność sosny na oddziaływanie czynników stresowych, w tym infekcje ze strony opieńki ciemnej. Nie można jednakże wykluczyć, że wystąpienie infekcji było skutkiem raczej szybszego wzrostu potencjału infekcyjnego opieńki ciemnej (zwiększona produkcja ryzomorf), stymulowanego podwyższoną koncentracją CO₂ w powietrzu.

Wątpliwości te powinny być wyjaśnione w dalszych badaniach poświęconych kształtowaniu się relacji patogen-gospodarz (drzewo) w warunkach podwyższonej koncentracji CO₂ w powietrzu i przewidywanych zmian klimatycznych.

Wskazane jest kontynuowanie doświadczeń z uwzględnieniem starszych sadzonek (co najmniej 2–3 letnich) oraz dłuższego czasu trwania ich hodowli.

Praca została złożona 24.03.2006 r. i przyjęta przez Komitet Redakcyjny 9.05.2006 r.

GROWTH OF SCOTS PINE SEEDLINGS AND *ARMILLARIA OSTOYAE* RHIZOMORPHS UNDER ELEVATED AIR CO₂ CONCENTRATION CONDITIONS

Summary

The aim of the research, whose results are presented in this work, was to determine the impact of increased CO₂ concentrations in the air to 750 ppm on the growth of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings and *Armillaria ostoyae* rhizomorphs (Romagn. Herink). Moreover, it was to specify the nature of the relationship between the pathogen and the host plant under the anticipated climate variation conditions. It was assumed that elevated CO₂ levels would have positive influence on the growth of seedlings causing an increase in the value of biometric parameters of seedlings in comparison with the CO₂ concentration of the control. It was further assumed that the presence of *Armillaria ostoyae* inoculum in containers with seedlings would cause a decrease in the value of biometric properties of Scots pine seedlings.

Two selected provenances of Scots pine were used for experiments (Bolevice – Microregion 306, Wielkopolsko-Pomorska Natural Forest Region III and Susz – Microregion 106, Bałtycka – Natural Forest Region I). They are characterised by above the average rate of growth and silvicultural quality. Pine seedlings were grown in Mytron WB 750 Climatic Chambers, under constant and controlled conditions: 25°C, 75% RH, 16/8 day/night (24hr) cycle and at about 30% of substrate moisture. The level of CO₂ in the chamber was controlled with a B-647 Controller (MKS Instruments), keeping it at 750 ppm (elevated CO₂ concentration in the air) and at 380 ppm (control). Eight months after germination, five months after placing the *Armillaria ostoyae* inoculum in the containers with seedlings and four months after the application of elevated CO₂ concentrations in the air, measurements of biometric parameters such as height, root collar diameter, dry mass of roots, shoot and needles were carried out. In addition, visual assessment of the development of *Armillaria ostoyae* rhizomorphs and infection to pine roots by a pathogen was performed. Most of the analysed parameters and biometric indicators of seedlings turned to be statistically significantly higher for the variants treated with elevated CO₂ concentrations in the air. The presence of *Armillaria ostoyae* inoculum did not seem to exert any statistically significant influence on seedling growth either in the elevated CO₂ levels or in the control. Contacts of *Armillaria ostoyae* rhizomorphs with tree seedling roots were confirmed only in the case of the seedlings growing under elevated air CO₂ conditions. The elevated CO₂ concentration in the air stimulated growth of *Armillaria ostoyae* rhizomorphs. A small number of rhizomorph contacts with seedling roots and infections, probably resulting from the short time of the experiments and the young age of the seedlings, are not sufficient to state that the future will see further increase of infections in Scots pine with the growing concentrations of CO₂ in the air. On the other hand, the results of the carried out experiments by no means preclude such a probability. This means that continuation of the experiments with the application of older (2–3 years old) seedlings and a longer cultivation time is highly recommended.

(transl. K. M.)

LITERATURA

- Bazzaz F. A. 1990: The response of natural ecosystems to the rising global CO₂ levels. *Ann. Rev. Ecol. System*, 21: 167-196.
- Brzeziecki B. 1995: Skale nominalne wymagań klimatycznych gatunków drzew leśnych. *Sylvan*, 3: 53-65.
- Climate Change 2001: Synthesis Report. Summary for Policymakers. An Assessment of the Intergovernmental Panel on Climate Change. UNFCCC, 2001.
- Climate Change Information Kit, UNEP, UNFCCC, 2002.
- Fabiszewski J. 1995: Zbiorowiska leśne w atmosferze bogatej w CO₂ – zmiany przewidywalne i nieprzewidywalne. *Sylvan*, 3: 41-51.
- Giertych M. 1997: Zmienność powienienicyjna sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w Polsce. *Sylvan*, 141, 8: 5-20.
- Guillaumin J. J., Rykowski K. 1980: Studium infekcji orzecha włoskiego (*Juglans regia* L.) przez opieńkę miodową [*Armillaria mellea* (Vahl) Quél.] w warunkach doświadczenia modelowego. *Fol. For. Pol.*, A, 24: 191-213.
- Hintikka V. 1974: Notes on the ecology of *Armillaria mellea* in Finland. *Karstenia*, 14: 12-31.
- Korczyk A. 2002: Jakość hodowlana drzewostanów sosnowych oraz wartość hodowlana i genetyczna drzew doborowych i porównawczych sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) ośmiu polskich pochodzeń. *Prace Inst. Bad. Leś., Rozprawy i Monografie*, Warszawa.
- Kowalczyk J. 1999: Porównanie selekcji genotypowej i fenotypowej na przykładzie plantacyjnych upraw nasiennych sosny. *Dokumentacja Inst. Bad. Leś., Warszawa*.
- Kowalski M. 1994: Zmiany składu gatunkowego lasów na tle zmian klimatu w ostatnich dwu stuleciach. *Sylvan*, 9: 33-43.
- Kozłowska C., Brennejen B., Benben K. 1961: Stan zagrożenia lasów polskich w r. 1960 przez ważniejsze choroby pochodzenia grzybowego. *Prace Inst. Bad. Leś.*, 226.
- Kozłowska C., Brennejen B., Łukomski S. 1962: Występowanie chorób pochodzenia grzybowego na terenie lasów polskich w latach 1960 i 1961. *Prace Inst. Bad. Leś.*, 246.
- Kozłowska C., Brennejen B. 1965: Występowanie chorób grzybowych na terenie lasów polskich w latach 1962 i 1963. *Prace Inst. Bad. Leś.*, 280.
- Norby R. J., O'Neill E. G., Luxmoore R. J. 1986: Effects of atmospheric CO₂ enrichment on the growth and mineral nutrition of *Quercus alba* seedlings in a nutrient-poor soil. *Plant Physiology*, 82: 83-89.
- Olszyk D. M., Johnson M. G., Phillips R. J., Seidler D. T., Tingey D. T., Watrud L. S., 2001: Interactive effects of CO₂ and O₃ on a ponderosa pine plant/litter/soil mesocosm. *Environmental Pollution*, 115, 3: 447-462.
- Rykowski K. 1984: Niektóre troficzne uwarunkowania patogeniczności *Armillaria mellea* (Vahl) Quél. w uprawach sosnowych. *Prace Inst. Bad. Leś.*, 640: 1-140.
- Rykowski K. 1990: Opieńkowa zgnilizna korzeni. PWRiL, Warszawa, 1-16.
- Rykowski K., Sierota Z., Żółciak A. 1988: Ocena odporności 7-letnich potomstw sosny zwyczajnej polskich proveniencji w zależności od zagrożenia infekcyjnego od opieńki *Armillaria mellea* (Vahl) Quél i warunków uprawowych. *Prace Inst. Bad. Leś.*, 668: 57-92.
- Schinner F., Concin R. 1981: Carbon dioxide fixation by wood rotting fungi. *Eur. J. For. Path.* 11, 1-2: 120-123.
- Sierota Z. 1995: Rola grzyba *Phlebiopsis gigantea* (Fr.: Fr.) Julich w ograniczaniu huby korzeni w drzewostanach sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) na gruntach porolnych. *Prace Inst. Bad. Leś.*, 1995, A, 810: 1-180.
- Sierota Z., Małecka M., Stocka T. 2005: Krótkoterminowa prognoza występowania ważniejszych szkodników i chorób infekcyjnych drzew leśnych w Polsce w 2005 roku. *Raport IBL*, Warszawa, 102-119.

- Vivekanandan M., Babu R. S., Saralabai V. C. 1999: Changes in CO₂ levels and their stress effect on photosynthetic carbon fixation. [W:] Handbook of plant and crop stress (red. M. Pessarakli). Marcel Dekker Inc. New York – Basel: 1163-1184.
- Żółciak A. 1999: Występowanie grzybów z rodzaju *Armillaria* (Fr.: Fr.) Staude w kompleksach leśnych w Polsce. Prace Inst. Bad. Leś., A, 890: 29-40.
- Żółciak A. 2004: Opieńkowa zgnilizna w drzewostanach sosnowych. Materiały z Konferencji Jubileuszowej. Choroby roślin na tle środowiska, (streszcz.) s. 179.