

MARTA ALEKSANDROWICZ-TRZCIŃSKA, KATARZYNA SIKORA, STANISŁAW DROZDOWSKI, JUSTYNA A. NOWAKOWSKA

Zbiorowiska grzybów ektomykoryzowych 35-letniego drzewostanu sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) rosnącego na gruncie porolnym

Ectomycorrhizal fungal assemblages in 35-years-old Scots pine stand growing on former agricultural land

ABSTRACT

Aleksandrowicz-Trzcńska M., Sikora K., Drozdowski S., Nowakowska J. A. 2021. Zbiorowiska grzybów ektomykoryzowych 35-letniego drzewostanu sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) rosnącego na gruncie porolnym. Sylwan 165 (1): 50-60. DOI: <https://doi.org/10.26202/sylwan.2020112>.

Ectomycorrhiza is one of the key factors influencing the success of afforestation of post-agricultural land. Currently, the assemblage of mycorrhizal fungi occurring in young forest plantations growing on former farmland have been quite well known. The aim of the study was the quantitative and qualitative analysis of Scots pine ectomycorrhizal fungi in the stand growing on post-agricultural land and to determine the impact of adding organic matter and fauna to the post-agricultural soils on the state of mycorrhizae 35 years after the treatment. The experiment consisted of 12 variants distinguished on the basis of the method of soil preparation (shallow and deep plowing) and the reclamation treatments used, including the introduction of millipedes (*Proteroiulus fuscus*), sowing lupine, introduction of bark and sawdust and two joint treatments: lupine and fauna as well as bark, sawdust and fauna. The control variant, without treatments constituted the comparison. Additionally, the 13th variant of the experiment was the external control plot, i.e. a 30-year-old pine stand growing on forest land. In each variant, 9 root samples with soil were taken. A 3.6 cm diameter sampler was stuck into the soil to a depth of 7-8 cm, at a distance of 60-80 cm from the tree trunk. The level of roots mycorrhization in stands on post-agricultural and forest land was close to 100%, and the identified species were typical pine symbiotes, commonly colonizing roots in stands of middle age classes. In both stand types the roots were colonized by 27 taxa of ectomycorrhizal fungi. *Cenococcum geophilum* was the only species that occurred in all variants of the experiment. Its abundance in post-agricultural land variants ranged from 13.2% (fauna) to 34.2% (lupine + fauna), and 0.2% in forest stands. *Telephora terrestris* occurred only in the stand on post-agricultural land. Its highest abundance was found in the variant with the addition of bark and sawdust (43.6%). The quantitative and qualitative structure of the ectomycorrhizal fungi assemblages, the presence of *T. terrestris* and the high proportion of *C. geophilum* indicate that the stand in the post-agricultural area is a disturbed ecosystem. The study showed no influence of soil preparation methods of post-agricultural land on mycorrhizal fungi assemblages, neither in case of shallow nor deep plowing. The beneficial effect of reclamation treatments on the development of short roots and the community of mycorrhizal fungi was not demonstrated either. The addition of bark and sawdust caused the domination of *T. terrestris* and the reduction of the species richness of mycorrhizal symbionts.

KEY WORDS

afforestation, disturbed ecosystem, reclamation treatments, *Cenococcum geophilum*, *Telephora terrestris*

ADDRESSES

Marta Aleksandrowicz-Trzcńska ⁽¹⁾ – e-mail: marta_aleksandrowicz_trzcinska@sggw.edu.pl

Katarzyna Sikora ⁽²⁾ – e-mail: k.sikora@ibles.waw.pl

Stanisław Drozdowski ⁽³⁾ – e-mail: stanislaw_drozdowski@sggw.edu.pl

Justyna A. Nowakowska ⁽⁴⁾ – e-mail: j.nowakowska@uksw.edu.pl

⁽¹⁾ Katedra Ochrony Lasu, SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

⁽²⁾ Zakład Ochrony Lasu, Instytut Badawczy Leśnictwa; Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn

⁽³⁾ Katedra Hodowli Lasu, SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

⁽⁴⁾ Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego; ul. Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa

Wstęp

Hodowla drzewostanów na gruntach porolnych stwarza wiele problemów. Wymaga większego nakładu pracy i kosztów, a przede wszystkim umiejętności i wiedzy hodowcy. W Polsce badania dotyczące zagadnień zalesiania gruntów porolnych prowadzone są od ponad 60 lat. Wyniki doświadczeń uzyskane w trakcie zalesień w okresie powojennym obejmują głównie zagadnienia hodowlane (przygotowanie gleby, skład gatunkowy, więźba sadzenia, formy zmieszania) i fitopatologiczne (ograniczanie zagrożenia ze strony huby korzeniowej) [Strzelecki, Sobczak 1972]. Stosunkowo nieliczne badania dotyczą innych aspektów związanych z hodowlaną drzewostanów na gruntach porolnych, jak np. mykotrofizm drzew [Hilszczańska 2002, 2005; Aleksandrowicz-Trzcńska 2005, 2006]. O ile jednak zbiorowiska grzybów mykoryzowych upraw zakładanych na gruntach porolnych zostały już stosunkowo dobrze poznane [Dominik 1961a-c; Pachlewski 1983; Kwiatkowski 1996; Fischer 1999; Werner i in. 2000; Hilszczańska 2002, 2005; Aleksandrowicz-Trzcńska 2005, 2006], to dotychczas nie prowadzono badań w drzewostanach starszych klas wieku.

Celem badań była analiza ilościowa i jakościowa zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych sosny zwyczajnej w drzewostanie rosnącym na gruncie porolnym oraz określenie wpływu zasilenia gleb porolnych materią organiczną i fauną na stan mykoryz 35 lat po wykonaniu zabiegu.

Materiał i metody

Obiektem badań była powierzchnia doświadczalna Katedry Ochrony Lasu Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie założona w 1977 roku w Nadleśnictwie Niedźwiady (RDLP Szczecinek). Doświadczenie składało się z 12 wariantów wyróżnionych na podstawie sposobu przygotowania gleby (orka płytka i orka głęboka) i zastosowanych zabiegów rekultywacyjnych, obejmujących introdukcję krocionoga (*Proteroiulus fuscus*) (fauna), wysianie łubinu (łubin) i wprowadzenie kory i trocin (kora i trociny), oraz dwóch kombinacji zabiegów (łubin i fauna; kora, trociny i fauna). Porównaniem był wariant kontrolny – bez zabiegów. Dodatkowo 13 wariant doświadczenia stanowiła zewnętrzna powierzchnia kontrolna – 30-letni drzewostan sosnowy rosnący na gruncie leśnym (Bśw). Każdy wariant doświadczenia był powtórzony trzykrotnie.

Na początku października pobrano próby korzeni wraz z glebą do oceny poziomu kolonizacji mykoryzowej. W tym celu użyto próbnika o średnicy 3,6 cm, który wbijano w glebę na głębokość 7-8 cm, w odległości 60-80 cm od pnia drzewa, w bruzdzie. Z każdego wariantu doświadczenia pobrano 9 prób (3 powtórzenia × 3 próby). Łącznie pobrano 108 prób korzeni z powierzchni

doświadczalnej i 9 prób z zewnętrznej powierzchni kontrolnej założonej w drzewostanie rosnącym na gruncie leśnym.

Po przewiezieniu do laboratorium próby przechowywano w temperaturze -18°C , sukcesywnie pobierając je do analiz. Korzenie płukano na sitach pod bieżącą wodą, a następnie analizowano pod mikroskopem stereoskopowym przy powiększeniu od 6,3 do 40 \times . W każdej próbie liczone wszystkie korzenie krótkie z podziałem na mykoryzowe, niemykoryzowe i martwe. Wierzchołki mykoryzowe identyfikowano na podstawie braku włosników, obecności mufki grzybniowej, zabarwienia, występowania strzępek i sznurów grzybniowych odgałęziających się od jej powierzchni, pogrubienia (hipertrofii) drobnych korzeni oraz przekształcenia ich w charakterystyczne formy mykoryzowe. Na podstawie wyglądu zakwalifikowano mykoryzy do morfotypów.

Określono świeżą masę i długość korzeni sosny w pojedynczej próbie. Długość korzeni określono metodą przecięć [Böhm 1985]. Metoda ta polega na losowym ułożeniu korzeni na siatce kwadratów o dowolnej długości boku (w prezentowanych badaniach bok kwadratów wynosił 0,5 cm) i określeniu liczby linii, które przecinają korzenie. Długość korzeni obliczono według wzoru:

$$L = 11/14 \cdot n \cdot a$$

gdzie:

- L – długość korzeni w cm,
- n – liczba przecięć siatki kwadratów,
- a – długość boku kwadratu (0,5 cm).

Na podstawie długości korzeni i liczby wierzchołków korzeni (autotroficznych, mykoryzowych i martwych) obliczono wskaźnik rozgałęzienia (WR).

Amplifikację rDNA grzybów przeprowadzono, stosując bezpośrednią reakcję PCR z materiału pobranego z wierzchołków mykoryzowych, stosując zestaw Phire[®]Plant Direct PCR Kit (Thermo Scientific[®], Waltham, MA, USA). Identyfikację gatunkową oparto na analizie intergenowych regionów zmiennych ITS1 i ITS2 rDNA, stosując startery ITS1, ITS4 i ITS8 [Gardes, Bruns 1993]. Reakcję amplifikacji przeprowadzono w następującej mieszaninie reakcyjnej: 1 \times bufor Q, 1 \times bufor Phire[®]Plant, 1 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 200 nM każdej pary starterów, 0,5 U polimerazy Dream Taq (Thermo Scientific[®], Waltham, MA, USA) oraz 1 μ l matrycy genomowego DNA. Mieszaninę reakcyjną inkubowano w aparacie PTC-200[™] Programmable Thermal Controller (MJ Research, Inc., Hercules, CA, USA), stosując dwuetapową amplifikację według schematu zagnieżdżonego PCR. W pierwszym etapie zastosowano następujący profil termiczny: 5 min wstępnej denaturacji w 94 $^{\circ}\text{C}$, 30 cykli amplifikacji (denaturacja 25 s w 94 $^{\circ}\text{C}$, przyłączanie starterów ITS1 i ITS4 przez 25 s w 64 $^{\circ}\text{C}$, wydłużanie produktów 35 s w 72 $^{\circ}\text{C}$) i końcowe wydłużanie produktów przez 10 min w 72 $^{\circ}\text{C}$. W drugim etapie stosowano te same warunki amplifikacji, ale dla starterów ITS1 i ITS8. Otrzymane amplikony wizualizowano za pomocą elektroforegramów w 1-procentowym żelu agarozowym, następnie oczyszczano rozdzielone produkty za pomocą zestawu CleanUp (A&A Biotechnology, Polska) zgodnie z zaleceniami producenta. Tak przygotowane fragmenty DNA poddawano reakcji sekwencjonowania w firmie Genomed Sp. z o.o. (Warszawa). Uzyskane chromatogramy sekwencji nukleotydomy identyfikowano za pomocą internetowej bazy GenBank BLAST-NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) na podstawie największego odsetka identyczności i prawdopodobieństwa e-value [Bzdyk i in. 2018].

Na podstawie metody morfotypowania i wyników uzyskanych z analiz molekularnych określono bogactwo gatunkowe jako liczbę taksonów grzybów mykoryzowych. Pojęcie taksonu jest rozumiane jako zidentyfikowany do różnego poziomu systematycznego morfotyp mykoryzowy. Zastosowanie takiego określenia wynika z faktu, że nie wszystkie analizowane mykoryzy zostały

zidentyfikowane do poziomu gatunku. Obliczono średnie bogactwo gatunkowe jako liczbę taksonów w próbie, frekwencję jako udział prób, w których stwierdzono takson, oraz względną obfitość każdego taksonu jako udział wierzchołków mykoryzowych utworzonych przez dany takson do ogólnego udziału wierzchołków mykoryzowych.

Przed przystąpieniem do analiz statystycznych sprawdzono zgodność rozkładu poszczególnych parametrów z rozkładem normalnym, stosując test W Shapiro-Wilka, oraz oceniono jednorodność wariancji testem Levene'a. Dla cech: świeża masa korzeni w próbie, długość korzeni w próbie oraz wskaźniki rozgałęzienia, dla których rozkład nie różnił się istotnie od rozkładu normalnego, a wariancje porównywanych ze sobą wariantów badawczych były jednorodne, wykorzystano do testowania wartości średnich cech jednoczynnikową analizę wariancji oraz zastosowano test HSD. Dla cech charakteryzujących poziom zmykoryzowania korzeni (udział wierzchołków mykoryzowych, martwych i niemykoryzowych) zastosowano test Kruskala-Wallisa. Wszystkie analizy wykonano z założonym poziomem istotności $\alpha=0,05$ w programie Statistica 13.

Wyniki

Cechami, które wyraźnie różnicują drzewostany na gruntach leśnych i porolnych, jest świeża masa i długość korzeni w próbie (tab. 1). Oba parametry były istotnie statystycznie większe dla prób pobranych w drzewostanie rosnącym na gruncie leśnym w porównaniu z porolnym (masa $p=0,0001$, długość $p=0,0001$). Nie stwierdzono natomiast różnic istotnych statystycznie między wariantami wyróżnionymi w drzewostanie rosnącym na gruncie porolnym. Wskaźnik rozgałęzienia zawierał się w przedziale 7,0-8,8 wierzchołków przypadających na 1 cm długości korzenia. Poszczególne warianty doświadczenia nie różniły się wielkością tego parametru (3 warianty $p=0,7374$, 6 wariantów $p=0,8498$).

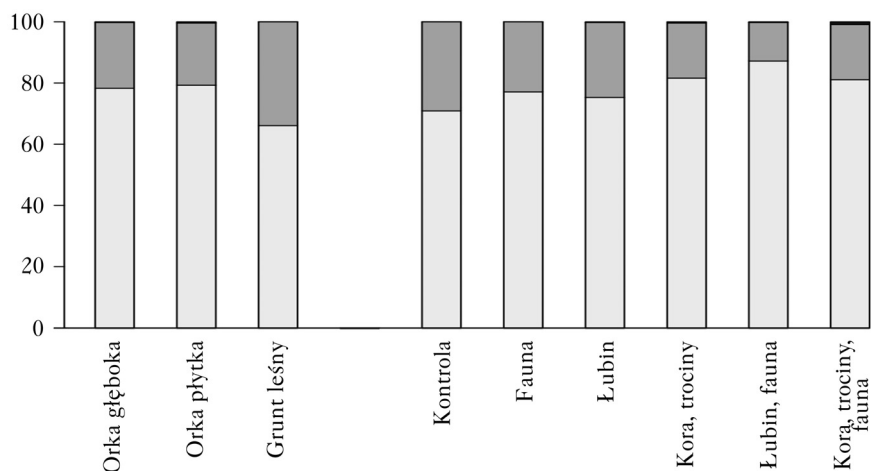
Poziom zmykoryzowania korzeni we wszystkich wariantach doświadczenia był bliski 100% (ryc.). Udział mykoryz martwych w próbach był nieco bardziej zróżnicowany. Najmniej wierzchołków martwych obserwowano w wariacie z łubinem i fauną – 12,7%, a najwięcej w wariantach kontrolnych: na gruncie porolnym 29,1% i na gruncie leśnym 33,9. Różnice te okazały się nieistotne statystycznie (3 warianty $p=0,3375$, 6 wariantów $p=0,7589$), podobnie jak w przypadku mykoryz żywych (3 warianty $p=0,3935$, 6 wariantów $p=0,7646$).

Tabela 1.

Średnia (\bar{x}) i współczynnik zmienności (V% [%]) świeżej masy (SWM [g]) i długości korzeni (L [cm]) w próbie oraz wskaźnika rozgałęzienia korzeni (WR [liczba wierzchołków/cm]) w analizowanych wariantach
Mean (\bar{x}) and coefficient of variation (V% [%]) of fresh weight (SWM [g]) and root length (L [cm]) in the sample and the root branching index (WR [number of tips/cm]) in analysed variants

	SWM		L		WR	
	\bar{x}	V%	\bar{x}	V%	\bar{x}	V%
Orka głęboka	0,189 a	66,4	58,4 a	60,1	8,0 a	45,1
Orka płytka	0,140 a	111,0	38,6 a	77,2	7,7 a	39,9
Grunt leśny	0,722 b	30,8	143,1 b	39,7	7,0 a	19,5
Kontrola	0,244 a	57,4	66,4 a	61,8	8,1 a	18,7
Fauna	0,216 a	76,5	59,4 a	59,3	8,0 a	31,6
Łubin	0,115 a	77,4	43,7 a	79,4	7,3 a	39,4
Kora, trociny	0,106 a	78,1	38,2 a	73,1	7,8 a	52,0
Łubin, fauna	0,150 a	90,0	44,8 a	74,3	7,0 a	22,7
Kora, trociny, fauna	0,146 a	123,6	36,9 a	63,7	8,8 a	65,7

ta sama litera przy średnich oznacza brak różnic istotnych statystycznie w teście HSD
the same letter means no statistically significant differences in the HSD test



Ryc.

Udział [%] wierchołków korzeni mykoryzowych (jasny), martwych (ciemny) i niemykoryzowych (czarny) w próbach pobranych w drzewostanach rosnących na gruncie leśnym oraz gruncie porolnym w wariantach z orką głęboką i płytką; zasileniem gleby fauną, łubinem, korą i trocinami i fauną oraz bez zasilenia (kontrola)

Fraction [%] of vital mycorrhizal (light), non-vital (dark) and non-mycorrhizal (black) root tips in samples collected in stands growing on forest land (grunt leśny) and on post-agricultural land in variants with deep and shallow plowing (orka głęboka and orka płytka respectively), fauna (fauna), lupine (lubin), bark and sawdust (kora, trociny), lupine and fauna (lubin, fauna) as well as bark, sawdust and fauna (kora, trociny, fauna) added to the soil, and control variant without any additions (kontrola)

Na podstawie analiz DNA, niezależnie od wariantów doświadczenia w całym doświadczeniu, w drzewostanach rosnących na gruncie leśnym i porolnym, korzenie kolonizowane były przez 27 taksonów grzybów ektomykoryzowych. W wariantach z orką płytką stwierdzono 19 taksonów, z orką głęboką 17 taksonów, a na gruncie leśnym – 11 taksonów. Sześć taksonów: *Cortinarius 2*, *Cortinarius 3*, *Piloderma* sp., *Piloderma sphaerosporum*, Basidiomycota i nieoznaczony 3 wystąpiło wyłącznie na korzeniach w drzewostanie rosnącym na gruncie leśnym (tab. 2). W drzewostanie rosnącym na gruncie leśnym nie stwierdzono występowania *Thelephora terrestris*, gatunku obecnego we wszystkich wariantach w drzewostanie rosnącym na gruncie porolnym (tab. 3 i 4).

Bogactwo gatunkowe grzybów mykoryzowych w poszczególnych wariantach z dostarczeniem do gleby materii organicznej i fauny glebowej zawierało się w przedziale od 7 taksonów w wariacie z korą i trocinami do 12 w wariacie z korą, trocinami i fauną. Gatunkiem dominującym w większości wariantów był *Cenococcum geophilum*. Gatunek ten jako jedyny został stwierdzony we wszystkich wariantach doświadczenia. Najniższą względną obfitość i frekwencję zanotowano w drzewostanie rosnącym na gruncie leśnym (odpowiednio 0,2 i 50%) (tab. 2-4). Względna obfitość i frekwencja *Thelephora terrestris* w drzewostanach na gruncie porolnym były wysokie, ale też zróżnicowane, najwyższe na działkach z korą i trocinami – powyżej 40%. Wprowadzenia krocionoga znacznie obniżyło zarówno udział, jak i frekwencję tego gatunku oraz umożliwiło kolonizację korzeni przez inne taksony (tab. 4).

Dyskusja

Zarówno cechy biometryczne korzeni drobnych, jak również skład zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych wskazują na istotne różnice między drzewostanami rosnącymi na gruncie porolnym i leśnym.

Tabela 2.

Względna obfitość (Wo [%]) i frekwencja (F [%]) taksonów stwierdzonych w drzewostanach sosnowych rosnących na gruncie porolnym w wariantach z orką płytką i głęboką oraz na gruncie leśnym

Relative abundance (Wo [%]) and frequency (F [%]) of taxa found in Scots pine stands growing on post-agricultural land in variants with shallow and deep plowing (orka płytka and orka głęboka, respectively) and on forest land (Grunt leśny)

	Orka płytka		Orka głęboka		Grunt leśny	
	Wo	F	Wo	F	Wo	F
<i>Cenococcum geophilum</i>	17,9	61,1	22,8	77,1	0,2	50,0
<i>Thelephora terrestris</i>	19,8	27,8	6,1	8,6		
<i>Amanita rubescens</i>	12,4	25,0	12,8	17,1		
<i>Amanita muscaria</i>			0,8	2,9	1,3	16,7
<i>Cortinarius</i> 1	8,8	25,0	3,5	14,3	1,6	33,3
<i>Cortinarius</i> 2					15,4	16,7
<i>Cortinarius</i> 3					2,9	16,7
<i>Atheliaceae</i> 1	11,3	22,2	7,1	11,4	3,1	33,3
<i>Atheliaceae</i> 2	1,5	2,8	5,9	8,6		
<i>Atheliaceae</i> 3	2,1	5,6	4,6	14,4		
<i>Pseudotomentella</i> 1	5,0	5,6	10,4	20,0	12,5	16,7
<i>Pseudotomentella</i> 2	2,9	2,8				
<i>Agaricomycetes</i>	0,04	2,8	10,9	20,0		
<i>Tricholoma flavovirens</i>	2,1	2,8	1,3	8,6		
<i>Cantharellaceae</i>	1,9	5,6	1,3	8,6		
<i>Hygrophorus aureus</i>			6,3	8,6		
<i>Russula</i> sp.	0,4	2,8				
<i>Russula laricina</i>	5,5	5,6				
<i>Piloderma</i> sp.					2,8	16,7
<i>Piloderma sphaerosporum</i>					11,0	16,7
<i>Boletus edulis</i>	0,7	2,8	0,9	2,9		
<i>Cortinarius</i> <i>Dermocybe</i> 1	0,1	2,8	0,3	2,9		
<i>Cortinarius</i> <i>Dermocybe</i> 2	1,8	2,8				
<i>Basidiomycota</i>					16,7	16,7
Nieoznaczony 1						
Undetermined 1	2,9	2,8	4,8	8,6		
Nieoznaczony 2						
Undetermined 2	2,9	2,8	0,1	2,9		
Nieoznaczony 3						
Undetermined 3					32,5	33,3

Korzenie drobne odgrywają kluczową rolę w regulacji cykli biogeochemicznych w ekosystemach leśnych i mają podstawowe znaczenie w zaspokajaniu potrzeb drzew względem wody i składników mineralnych poprzez ciągłą penetrację gleby i nawiązywanie związków symbiotycznych z grzybami mykoryzowymi [Jagodziński, Kałucka 2010, 2011]. W przeprowadzonych badaniach świeża masa i długość korzeni w próbie, istotnie wyższe w drzewostanie rosnącym na gruncie leśnym w porównaniu do porolnego, wskazują na lepszy rozwój korzeni w glebie leśnej. Jednocześnie nie wykazano wpływu sposobu przygotowania gleby na gruncie porolnym orką płytką lub głęboką na rozwój korzeni krótkich, jak również zaobserwowano brak korzystnego wpływu zabiegów rekultywacyjnych na rozwój korzeni.

Poziom zmykoryzowania korzeni we wszystkich wariantach doświadczenia był bliski 100%. Stwierdzone w obu drzewostanach gatunki czy taksony grzybów są typowymi symbiontami

Tabela 3.

Względna obfitość (Wo [%]) i frekwencja (F [%]) taksonów stwierdzonych w drzewostanach sosnowych rosnących na gruncie porolnym w wariantach kontrolnym, z fauną i łąbinem

Relative abundance (Wo [%]) and frequency (F [%]) of taxa found in Scots pine stands growing on post-agricultural land in control (Kontrola), with fauna (Fauna) or lupine (Łubin) variants

	Kontrola		Fauna		Łubin	
	Wo	F	Wo	F	Wo	F
<i>Cenococcum geophilum</i>	17,5	100,0	13,2	50,0	19,4	75,0
<i>Thelephora terrestris</i>	5,2	8,3	2,4	8,3	9,6	8,3
<i>Amanita rubescens</i>	8,7	25,0	25,3	33,3	2,9	16,7
<i>Amanita muscaria</i>						
<i>Cortinarius 1</i>	11,8	58,3	6,2	8,3	17,2	25,0
<i>Cortinarius 2</i>						
<i>Cortinarius 3</i>						
<i>Atheliaceae 1</i>	16,4	50,0	6,9	16,7	5,6	8,3
<i>Atheliaceae 2</i>	3,7	8,3	11,0	16,7		
<i>Atheliaceae 3</i>			2,3	8,3	14,3	33,3
<i>Pseudotomentella 1</i>	8,2	8,3	14,2	16,7	5,8	8,3
<i>Pseudotomentella 2</i>						
<i>Agaricomycetes</i>	19,6	25,0			2,0	16,7
<i>Tricholoma flavovirens</i>	9,0	16,7				
<i>Cantharellaceae</i>					4,4	25,0
<i>Hygrophorus aureus</i>						
<i>Russula sp.</i>					18,7	16,7
<i>Russula laricina</i>						
<i>Piloderma sp.</i>						
<i>Piloderma sphaerosporum</i>						
<i>Boletus edulis</i>			1,9	8,3		
<i>Cortinarius/Dermocybe 1</i>						
<i>Cortinarius/Dermocybe 2</i>						
<i>Basidiomycota</i>						
Nieoznaczony 1			8,1	8,3		
Undetermined 1						
Nieoznaczony 2			8,3	8,3		
Undetermined 2						
Nieoznaczony 3						
Undetermined 3						

sosny, powszechnie kolonizującymi korzenie w drzewostanach średnich i starszych klas wieku, również na gruntach porolnych [Kałucka, Jagodziński 2016]. Uzyskane wyniki wskazują, że zbiorowiska grzybów mykoryzowych w drzewostanach założonych na glebie przygotowanej orką płytką lub głęboką na gruncie porolnym są zbliżone i różnią się od zbiorowiska w drzewostanie na gruncie leśnym.

Gatunkiem dominującym był *Cenococcum geophilum*. Jego względna obfitość w całym doświadczeniu wynosiła 18,8%, a frekwencja 66,7%. Stwierdzany był jako jedyny takson we wszystkich wariantach doświadczenia. O ile jednak jego udział w drzewostanach na gruntach porolnych był zawsze wysoki, to na gruncie leśnym zanotowano jedynie wysoką frekwencję tego gatunku (50%), natomiast udział był najniższy ze wszystkich taksonów – 0,2%. *C. geophilum* jest kosmopolitycznym symbiontem, kolonizującym korzenie wielu gatunków drzew rosnących w różnych warunkach siedliskowych [LoBuglio 1999], tworzy mykoryzy we wszystkich stadiach rozwojo-

Tabela 4.

Względna obfitość (Wo [%]) i frekwencja (F [%]) taksonów stwierdzonych w drzewostanach sosnowych rosnących na gruncie porolnym w wariantach: kora i trociny, łubin i fauna oraz kora, trociny i fauna
Relative abundance (Wo [%]) and frequency (F [%]) of taxa found in Scots pine stands growing on post-agricultural land in bark and sawdust (Kora, trociny), lupine and fauna (Łubin, fauna) as well as bark, sawdust and fauna (Kora, trociny, fauna) variants

	Kora, trociny		Łubin, fauna		Kora, trociny, fauna	
	Wo	F	Wo	F	Wo	F
<i>Cenococcum geophilum</i>	18,2	54,5	34,2	66,7	19,3	66,7
<i>Thelephora terrestris</i>	43,6	45,5	0,3	8,3	21,0	33,3
<i>Amanita rubescens</i>			11,1	25,0	23,4	25,0
<i>Amanita muscaria</i>			2,3	8,3		
<i>Cortinarius 1</i>			1,7	16,7		
<i>Cortinarius 2</i>						
<i>Cortinarius 3</i>						
<i>Atheliaceae 1</i>	9,1	9,1	16,7	16,7		
<i>Atheliaceae 2</i>					6,3	8,3
<i>Atheliaceae 3</i>	4,5	9,1			1,2	8,3
<i>Pseudotomentella 1</i>			14,0	25,9	2,5	16,7
<i>Pseudotomentella 2</i>			8,3	8,3		
<i>Agaricomycetes</i>	2,5	9,1			7,7	16,7
<i>Tricholoma flavovirens</i>	0,5	9,1	0,1	8,3		
<i>Cantharellaceae</i>			5,4	16,7		
<i>Hygrophorus aureus</i>	21,5	27,3				
<i>Russula sp.</i>					1,1	8,3
<i>Russula laricina</i>						
<i>Piloderma sp.</i>						
<i>Piloderma sphaerosporum</i>						
<i>Boletus edulis</i>					4,5	8,3
<i>Cortinarius Dermocybe 1</i>			0,9	8,3	0,4	8,3
<i>Cortinarius Dermocybe 2</i>			5,0	8,3		
<i>Basidiomycota</i>						
Nieoznaczony 1					13,5	25,0
Undetermined 1						
Nieoznaczony 2					0,4	8,3
Undetermined 2						
Nieoznaczony 3						
Undetermined 3						

wych drzewostanu, jest stałym elementem zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych, ale ze względu na niską konkurencyjność rzadko dominującym [Visser 1995]. Jego udział wzrasta w ekosystemach zaburzonych przez przemysłowe zanieczyszczenia powietrza [Kowalski 1987; Petera i in. 2008], suszę [LoBuglio 1999] lub rosnących w ekstremalnych warunkach: powyżej 2700 m [Trappe 1988], w zimnym klimacie [Vogt i in. 1981] czy skrajnie ubogich środowiskach [Motsuda i in. 2009; Aučna i in. 2011]. Wysoki udział *C. geophilum* nakazuje zaliczyć drzewostan rosnący na gruncie porolnym (bez względu na wariant doświadczenia) do ekosystemów zaburzonych.

Dość wysokim udziałem, ale też zróżnicowanym obfitością i frekwencją charakteryzował się *T. terrestris*. Średnio dla całego doświadczenia względna obfitość tego gatunku wynosiła 11,9%, a frekwencja 16,7%. Mykoryzy tworzone przez *T. terrestris* stwierdzone były wyłącznie w glebie gruntu porolnego. Dominowały one w wariantach z korą i trocinami (tab. 2-4), co wska-

zuje na występowanie dobrych warunków do tworzenia i rozwoju symbiozy tworzonej przez ten gatunek. *T. terrestris* jest gatunkiem pionierskim, ubikwistycznym, często dominującym w szkółkach leśnych, odnowieniach i młodych drzewostanach, szczególnie przy braku innych gatunków mykoryzowych. Niska konkurencyjność tego symbionta powoduje, że nawet jeżeli występuje w starszych drzewostanach, to jego udział jest niewielki [Colpaert 1999]. Jansen [1991] uważa, że obecność *T. terrestris* w starszych drzewostanach można wytłumaczyć jedynie brakiem innych kompatybilnych gatunków grzybów mykoryzowych.

Dodanie do gleby porolnej trocin powoduje istotne zmiany w zbiorowiskach grzybów glebowych. W glebie porolnej dominują gatunki z rodzajów: *Penicillium*, *Pseudogymnoascus*, *Peaciliomyces* i *Apiospora*. Szczególnie licznie reprezentowane są grzyby z rodzaju *Penicillium*, które łatwo rozkładają celulozę w środowisku obojętnym. Obfitość bazy pokarmowej w postaci trocin skutkuje dominacją grzybów z rodzaju *Trichoderma*, utrzymującą się przez kilka kolejnych lat [Sierota, Kwaśna 1998, 1999; Kwaśna i in. 2000]. Obecność grzybów z rodzaju *Trichoderma* w glebie silnie wpływa na kształtowanie zbiorowisk mikroorganizmów glebowych – zarówno saprotroficznych, jak i patogenicznych – dzięki antybiozie, konkurencji i pasożytnictwu [Okorski 2007]. Symbioza grzybów z rodzaju *Trichoderma* obecna na korzeniach indukuje odporność roślin na choroby i niekorzystne działanie czynników abiotycznych (takich jak susza czy zasolenie) oraz stymuluje ich wzrost [Harman 2011]. Niekorzystnym aspektem obecności w glebie grzybów z rodzaju *Trichoderma* może być inhibicja tworzenia mykoryz [Summerbell 1987], aczkolwiek niektóre badania nie potwierdzają tej tezy [Werner i in. 2002].

Wysoki udział *T. terrestris* i niska różnorodność biologiczna grzybów mykoryzowych w wariantach z korą i trocinami nie musi być równoznaczna ze słabszym wzrostem sosny. Hilszczańska i in. [2008] wykazali, że grzybnia *T. terrestris* charakteryzowała się kilkakrotnie wyższym poziomem poligalakturonazy oraz dwukrotnie wyższym poziomem chitynazy i kwaśnej fosfatazy w porównaniu do innego symbionta mykoryzowego *Hebeloma crustuliniforme*. W korzeniach siewek inokulowanych *T. terrestris* wykazano wyższą aktywność β -glukozydazy niż w sosnach nieinokulowanych lub szczepionych *H. crustuliniforme*. Wyższa aktywność enzymatyczna skutkuje lepszym wykorzystaniem składników pokarmowych przez mykoryzy tworzone przez *T. terrestris*. Kwaśna fosfataza jest odpowiedzialna za uwalnianie nieorganicznego fosforu [Tibbett i in. 1998], chitynaza umożliwia pozyskiwanie węgla i azotu [Hodge i in. 1995], a β -glikozydaza odgrywa rolę w pozyskaniu organicznych form fosforu oraz azotu z białek i chityny [Courty i in. 2005]. Ponadto β -glukozydaza może być czynnikiem usprawniającym mechanizmy obronne rośliny gospodarza [Colpaert, Laere 1996].

Boerner i in. [1996] wykazali, że zaburzenia w tworzeniu ektomykoryzy w drzewostanach założonych na gruntach porolnych ustępują po 25-30 latach po zalesieniu. Wyniki uzyskane w niniejszych badaniach nie potwierdzają tej tezy. W 35-letnim drzewostanie nadal występowały różnice w strukturze ilościowej i jakościowej zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych, a obecność *T. terrestris* i wysoki udział *C. geophilum* wskazują, że drzewostan na gruncie porolnym jest ekosystemem zaburzonym.

Nie zaobserwowano korzystnego wpływu zastosowanych zabiegów rekultywacyjnych na kształtowanie zbiorowisk grzybów mykoryzowych w drzewostanie rosnącym na gruncie porolnym. Stosunkowo najlepsze efekty uzyskano na działkach, na których wprowadzono tylko faunę, co przejawiało się najwyższym bogactwem gatunkowym oraz najniższą względną obfitością *C. geophilum* i *T. terrestris*. Zastosowanie kory i trocin skutkowałoubożeniem bogactwa gatunkowego grzybów mykoryzowych.

Wnioski

- ✦ Cechy biometryczne korzeni wskazują na istotne różnice między drzewostanami rosnącymi na gruncie porolnym i leśnym. Zarówno świeża masa, jak i długość korzeni w próbie wskazują na lepszy rozwój korzeni w glebie leśnej.
- ✦ Poziom zmykoryzowania korzeni sosny w drzewostanach na gruncie porolnym i leśnym był bliski 100%, a stwierdzone gatunki są typowymi symbiontami sosny, powszechnie kolonizującymi korzenie w drzewostanach średnich klas wieku.
- ✦ Struktura ilościowa i jakościowa zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych, obecność *T. terrestris* i wysoki udział *C. geophilum* wskazują, że drzewostan na gruncie porolnym jest ekosystemem zaburzonym.
- ✦ W przeprowadzonych badaniach nie wykazano wpływu sposobu przygotowania gleby orką płytką lub głęboką na gruncie porolnym na rozwój korzeni krótkich i zbiorowiska grzybów mykoryzowych.
- ✦ Nie wykazano również korzystnego wpływu zabiegów rekultywacyjnych na rozwój korzeni krótkich i zbiorowiska grzybów mykoryzowych. Dodanie kory i trocin spowodowało dominację *T. terrestris* i zubożyło bogactwo gatunkowe symbiontów mykoryzowych.

Literatura

- Aleksandrowicz-Trzczińska M. 2005. Stan mikoryz sosny zwyczajnej w uprawie założonej na gruncie porolnym. Sylwan 149 (2): 42-49. DOI: <https://doi.org/10.26202/sylwan.9200416>.
- Aleksandrowicz-Trzczińska M. 2006. Mycorrhizae in a Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) plantation on post-agricultural land. Ann. Warsaw Agricult. Univ. – SGGW, For. And Wood Technol. 60: 39-50.
- Aučna A., Rudawska M., Leski T., Ryliškis D., Pietras M., Riepišas E. 2011. Ectomycorrhizal fungal communities on seedlings and conspecific trees of *Pinus mugo* grown on the coastal dunes of the Curonian Spit in Lithuania. Mycorrhiza 21: 237-245.
- Boerner R. E. J., DeMars B. G., Leicht P. N. 1996. Spatial patterns of mycorrhizal infectiveness of soils long a successional chronosequence. Mycorrhiza 6: 79-90.
- Böhmer W. 1985. Metody badania systemów korzeniowych. PWRiL, Warszawa.
- Buée M., Vairelles D., Garbaye J. 2005. Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus sylvatica*) forest subjected to two thinning regimes. Mycorrhiza 15: 235-245.
- Bzdyk R. M., Olchowik J., Studnicki M., Oszako T., Sikora K., Szmidla H., Hilszczańska D. 2018. The impact of effective microorganisms (EM) and organic and mineral fertilizers on the growth and mycorrhizal colonization of *Fagus sylvatica* and *Quercus robur* seedlings in a bare-root nursery experiment. Forests 9 (10): 597.
- Colpaert J. V. 1999. Thelephora. W: Cairney J. W. G., Chambers S. M. [red.]. Ectomycorrhizal fungi. Springer, Berlin. 325-345.
- Colpaert J. V., van Laere A. 1996. A comparison of the extracellular enzyme activities of two ectomycorrhizal and a leaf-saprotrophic basidiomycete colonizing beech leaf litter. New Phytol. 133: 133-141.
- Courty P. E., Pritsch K., Scholter M., Hartmann A., Garbaye J. 2005. Activity profiling of ectomycorrhiza communities in two forest soils using multiple enzymatic test. New Phytol. 167: 309-319.
- Dominiak T. 1961a. Próby naturalnego wyizolowania grzybów mikoryzowych z gleb rolnych i nieużytków w okolicy Szczecina. Prace IBL 227: 3-37.
- Dominiak T. 1961b. Studium o mikoryzie. Fol. For. Pol. Ser. A. 5: 3-160.
- Dominiak T. 1961c. Badania nad przeszczepianiem mikrobiocenozy gleb leśnych na tereny rolne. Prace IBL 210: 103-162.
- Fischer H. 1999. Mykorrhizen schon in der Kulturphase? Forst u. Holz 54: 742-745.
- Gardes M., Bruns T. D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology 2: 113-118.
- Harman G. E. 2011. Multifunctional fungal plant symbionts: New tools to enhance plant growth and productivity. New Phytol. 189: 647-649.
- Hilszczańska D. 2002. Mycorrhizal fungi in Scot pine cultures after seedlings outplanting on post-agricultural lands. Fol. For. Pol. Ser. A- For. 44: 97-102.
- Hilszczańska D. 2005. Struktura ektomikoryz u sadzonek sosny zwyczajnej inokulowanych wybranymi grzybami mikoryzowymi, wysadzonych na gruncie porolnym i marginalnym. Leś. Pr. Bad. 1: 43-52.

- Hilszczańska D., Ciesielska A., Sierota Z. 2008. Enzymatic activity of *Thelephora terrestris* and *Habeloma crustuliniforme* in cultures and mycorrhizal association with Scots pine seedlings. Polish J. of Environ. Stud. 17 (6): 881-886.
- Hodge A., Alexander I. J., Gooday G. W. 1995. Chitinolic enzymes of pathogenic and ectomycorrhizal fungi. Mycological Research 99: 935-941.
- Jagodziński A. M., Kałucka I. 2010. Fine roots biomass and morphology in a chronosequence of young *Pinus sylvestris* stands growing on a reclaimed lignite mine spoil heap. Dendrobiology 64: 19-30.
- Jagodziński A. M., Kałucka I. 2011. Fine root biomass and morphology in an age-sequence of post-agricultural *Pinus sylvestris* L. stands. Dendrobiology 66: 71-84.
- Jansen A. E. 1991. The mycorrhizal status of Douglas fir in the Netherlands: its relation with stand age, regional factors, atmospheric pollutants and tree vitality. Agric. Ecosyst. Environ. 35: 191-208.
- Kałucka I., Jagodziński A. M. 2016. Successional traits of ectomycorrhizal fungi in forest reclamation after surface mining and agricultural disturbances: A review. Dendrobiology 76: 91-104.
- Kowalski S. 1987. Mycotrophy of trees in converted stands remaining under strong pressure of industrial pollution. Angew. Botanik 61: 65-83.
- Kranabetter J. M., Durall D. M., MacKenzie W. H. 2009. Diversity and species distribution of ectomycorrhizal fungi along productivity gradients of a southern boreal forest. Mycorrhiza 19: 99-111.
- Kwaśna H., Sierota Z., Bateman G. L. 2000. Fungal communities in fallow soil before and after amending with pine sawdust. Applied Soil Ecology 14: 177-182.
- Kwiatkowski G. 1996. Mikotrofizm sadzonek świerka pospolitego *Picea bies* (L.) Karst. w uprawie na gruncie porolnym i leśnym. Zeszyty Naukowe AR w Krakowie 25: 39-51.
- LoBuglio K. F. 1999. *Cenococcum*. W: Cairney J. W. G., Chambers S. M. [red.]. Ectomycorrhizal fungi. Springer, Berlin. 287-309.
- Motsuda Y., Noguchi Y., Ito S. 2009. Ectomycorrhizal fungal community of naturally regenerated *Pinus thunbergii* seedlings in a coastal pine forest. J. For. Res. 14: 335-341.
- Nowakowska J. A., Małewski T., Tereba A., Borys M., Oszako T. 2016. Molekularna diagnostyka wybranych patogenów z rodzaju *Phytophthora* w ramach integrowanej ochrony roślin. Sylwan 160 (5): 365-370. DOI: <https://doi.org/10.26202/sylvan.2015070>.
- Okorski A. 2007. Biologiczna ochrona roślin przed chorobami – mechanizmy i perspektywy rozwoju. Postępy Nauk Rolniczych 5: 21-36.
- Pachlewski R. 1983. Grzyby symbiotyczne i mikoryza sosny (*Pinus sylvestris* L.). Prace IBL 615: 1-133.
- Petera M., Ayer F., Cudlín P., Egli S. 2008. Belowground ectomycorrhizal communities in three Norway spruce stands with different degrees of decline in the Czech Republic. Mycorrhiza 18: 157-169.
- Sierota Z., Kwaśna H. 1998. Effect of pine sawdust on the structure of fungi communities in the soils of post agricultural land. Acta Mycol. 33: 77-90.
- Sierota Z., Kwaśna H. 1999. Ocena mikologiczna zmian zachodzących w glebie gruntu porolnego po dodaniu trocin iglastych. Sylwan 143 (4): 57-66.
- Strzelecki W., Sobczak R. 1972. Zalesianie nieużytków i gruntów trudnych do odnowienia. PWRiL, Warszawa.
- Summerbell R. 1987. The inhibitory effect of *Trichoderma* species and other soil microfungi on formation of mycorrhiza by *Laccaria bicolor* *in vitro*. New Phytol. 105: 437-448.
- Tibbett M., Chambers S. M., Cairney J. W. G. 1998. Methods for determining extracellular and surface-bound phosphate activities in ectomycorrhizal fungi. W: Varma A. [red.]. Mycorrhiza manual. Springer, New York. 217-226.
- Trappe J. M. 1988. Lessons from alpine fungi. Mycologia 80: 1-10.
- Visser S. 1995. Ectomycorrhizal fungal succession in jack pine stands following wildfire. New Phytol. 129: 389-401.
- Vogt K. A., Edmonds R. L., Grier C. C. 1981. Dynamics of ectomycorrhizae in *Abies amabilis* stands: the role of *Cenococcum graniforme*. Holarct. Ecol. 4: 167-173.
- Werner A., Nadworny M., Idzikowska K. 2002. Interaction between *Laccaria laccata* and *Trichoderma virens* in co-culture and in rhizosphere of *Pinus sylvestris* grown *in vitro*. Mycorrhiza 12: 139-145.