

Dorota HILSZCZAŃSKA*

STRUKTURA EKTOMIKORYZ U SADZONEK SOSNY ZWYCZAJNEJ INOKULOWANYCH WYBRANYMI GRZYBAMI MIKORYZOWYMI, WYSADZONYCH NA GRUNCIE POROLNYM I MARGINALNYM

ECTOMYCORRHIZAL STRUCTURE ON SCOTS PINE SEEDLINGS
INOCULATED WITH CHOSEN MYCORRHIZAL SPECIES AND OUT PLANTED
IN POST AGRICULTURAL AND MARGINAL LAND

Abstract. *The effect on quantity and quality of ectomycorrhizas after inoculation of Pinus sylvestris L. with three ectomycorrhizal (ECM) basidiomycetes: Suillus luteus (isolate 5409 IBL), Boletus pinicola (isolate 5406 IBL) and Hygrophorus olivaceoalbus (isolate Mykoflor), and possibility to increase mycorrhizal diversity on roots were investigated in soil of post-agricultural land. Five months after inoculation and planting seedlings inoculated with B. pinicola had 95% of all mycorrhizas on roots, and presence of 6 morphotypes was identified. Seedlings inoculated with S. luteus and H. olivoceoalbus had about 78% mycorrhizas and 5 morphotypes. Non-inoculated seedlings possessed also 5 morphotypes, but a smaller number of mycorrhizas – about 64%. On marginal land two different kinds of seedlings were planted: 1–bare-rooted and 2–containerised. Although differences were not statistically significant, greater number of mycorrhizas possessed seedlings from treatment 2. Morphotypes formed by Thelephora terrestris fungus colonized 80% of fine roots on seedlings from treatment 1, and 20% on seedlings from treatment 2. Results indicate that used fungi are worth further investigating to ascertain if they can promote pine growth.*

Key words: Scots pine, inoculation, PCR RFLP, ectomycorrhiza.

* Zakład Fitopatologii Leśnej, Instytut Badawczy Leśnictwa, Sękocin Las, 05-090 Raszyn,
e-mail: D.Hilszczanska@ibles.waw.pl

1. WPROWADZENIE

Produkcja słabo rozwiniętych, niewystarczająco odżywionych siewek w szkółkach leśnych wynika często z braku mikoryz lub spóźnionego ich tworzenia. Zastosowanie takiego materiału do zalesiania gruntów porolnych czy gleb zdegradowanych przez przemysł powoduje małą udatność nasadzeń (Marx 1980). Również przy kontenerowej produkcji sadzonek składniki używanego substratu uniemożliwiają rozwój grzybów ektomikoryzowych i sadzonki rosnące w warunkach wysokiego nawożenia mają zwykle nieregularne i słabo rozwinięte ektomikoryzy (Castellano i Molina 1989). Niemikoryzowane siewki dobrze rosną na sztucznych substratach, ale po przesadzeniu na stanowiska stałe ich zdolności do wykorzystywania wody i składników mineralnych z gleby, ulegają osłabieniu. Siewki z mikoryzą, w porównaniu z niemikoryzowanymi, są lepiej przygotowane do inicjowania eksploracji gleby i stąd mają większe szanse na przeżycie na terenach zalesianych (Kropp i Langlois 1990).

Na korzystny wpływ szczepienia gleb uprawnych (przy użyciu gleby leśnej, zawierającej zarodniki i grzybnię vegetatywną grzybów mikoryzowych, bądź przy użyciu samej grzybni), na których wysadzano sadzonki sosny, zwrócił uwagę już w latach 60. ubiegłego wieku Tadeusz Dominik (1961). Obecność wielu gatunków grzybów ektomikoryzowych w glebie lub na korzeniach materiału sadzeniowego jest konieczna dla utrzymania w odpowiedniej kondycji zdrowotnej młodych sadzonek wysadzonych nie tylko na gruntach porolnych, ale także na stanowiskach leśnych zniszczonych przez pożary lub będących pod wpływem zanieczyszczeń (Kowalski 1987; Dodd i Thomson 1994). W takich warunkach wzrost sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.), będącej podstawowym gatunkiem lasotwórczym w Polsce, jest często hamowany przez tak długi okres, że wiele sadzonek ginie po przesadzeniu.

Penetracja gleby przez grzyby mikoryzowe jest możliwa dzięki grzybni ekstramatrykalnej, która koncentruje się głównie blisko mufki mikoryzowej lub ryzomorf. Na podstawie rozmieszczenia i zróżnicowania grzybni w glebie Agerer (2001) wyróżnił kilka tzw. „typów penetracyjnych” grzybni ekstramatrykalnej, reprezentujących różne strategie żywieniowe grzybów mikoryzowych. Grzyby z rodzaju *Boletus* czy *Suillus* mają zdolność rozprzestrzeniania swojej grzybni na duże odległości, tj. powyżej 20 cm.

Celem pracy jest:

– poznanie możliwości zwiększania różnorodności mikoryz u siewek sosny wysadzonych na grunty porolne po zastosowaniu wybranych szczepionek mikoryzowych z użyciem grzybni gatunków reprezentujących 2 typy penetracji gleby: na średnie i duże odległości,

– określenie struktury mikoryz u sadzonek sosny po wysadzeniu na grunt marginalny i porolny.

2. MATERIAŁ I METODY

Powierzchnie doświadczalne założono na dwóch rodzajach gruntu: marginalnym i porolnym w Nadleśnictwie: Bełchatów, na zwałowisku zewnętrznym, o pH 8 w KCL, i w Nadleśnictwie Garwolin; na piasku gliniastym lekkim, o pH 5,5 w KCL.

W Nadleśnictwie Bełchatów wysadzono 2 rodzaje sadzonek:

- z odkrytym systemem korzeniowym, pochodzące z lokalnej szkółki,
- z zakrytym systemem korzeniowym, pochodzące ze szkółki kontenerowej w Nadl. Jabłonna.

Wśród mikoryz siewek kontenerowych około 90% stanowiły mikoryzy utworzone przez grzyb *Thelephora terrestris*, a około 10% – ektendomikoryzy. Siewki z otwartych szkółek miały mikoryzy tylko *Thelephora terrestris* (około 99%). Doświadczenia prowadzono w układzie całkowicie losowym, 3 powtórzenia dla każdego wariantu. W każdym wariantcie znajdowało się 15 roślin.

W Nadleśnictwie Garwolin, na powierzchni reprezentującej grunt porolny wysadzono sadzonki z odkrytym systemem korzeniowym, które mikoryzowano z udziałem grzybni wegetatywnej trzech gatunków grzybów: *Suillus luteus* (maślak żółty), *Boletus pinicola* (borowik sosnowy) i *Hygrophorus olivaceoalbus* (wodnicha jasnożółta). Izolaty dwóch wymienionych gatunków pochodziły z kolekcji czystych kultur Instytutu Badawczego Leśnictwa: *B. pinicola* – nr 5406 IBL, *S. luteus* – nr 5409 IBL, natomiast grzybnia *H. olivaceoalbus* pochodziła od firmy Mykoflor. Aby sprawdzić czystość stosowanych szczepionek, przeprowadzono obserwacje mikroskopowe grzybni, które nie wykazały żadnych infekcji badanych izolatów. Inokulację przeprowadzono według instrukcji producenta (firma Mykoflor), zanurzając systemy korzeniowe siewek w roztworze wodnym ze zmiksowaną grzybnią.

Po pięciu miesiącach analizowano cechy morfologiczne mikoryz. Analizę przeprowadzono na 10 korzeniach pobranych losowo z 15 siewek dla każdej kwatery (wariantu). Korzenie krótkie cięto na małe fragmenty (ok. 1 cm), pobierając je z górnej, środkowej i dolnej części systemu korzeniowego (Parlade i in. 1996a i b). Procentowy udział mikoryz obliczano po zbadaniu przynajmniej 200 krótkich korzeni pod mikroskopem stereoskopowym. Cechy morfologiczne mikoryz opisano w oparciu o klucze i metody przedstawione przez Agerer (1987–1997), van der Heijden (2000), Ingleby i in. (1990).

Dane analizowano przy pomocy programu Statistica'98. Stosowano test Fishera i test t-Studenta przy poziomie istotności $p = 0,05$. Dane dotyczące liczebności mikoryz wyrażone procentowo transformowano przy pomocy funkcji arcsin w celu normalizacji ich rozkładu.

Identyfikację mikoryz przeprowadzono metodą PCR RFLP (Gardes i Bruns 1993), badając DNA partnera grzybowego. Analizowano 36 próbek mikoryz reprezentujących 22 typy mikoryz, które wyróżniono na podstawie cech morfologicznych pod mikroskopem stereoskopowym.

3. WYNIKI

Wielkość wewnętrznej sekwencji niekodującej ITS oraz wzory RFLP przedstawia tabela 1. Amplifikacja fragmentu ITS powiodła się dla 18 morfotypów spośród 22 wyróżnionych na podstawie cech morfologicznych. Dostępne wzorce RFLP pozwoliły na identyfikację 9 typów mikoryz, których opis morfologiczny przedstawia tabela 2.

Na powierzchni założonej na gruncie porolnym w Garwolinie najwyższy udział mikoryz – około 95% – odnotowano w wariancie mikoryzowanym grzybnią *Boletus pinicola* (ryc.1). W wariantach mikoryzowanych grzybnią *Hygrophorus olivaceoalbus* i *Suillus luteus* udział mikoryz był na podobnym poziomie i wynosił około 78%. Natomiast w wariancie niemikoryzowanym (kontrola) udział mikoryz wynosił 64%.

Zróznicowanie morfotypów mikoryzowych było najwyższe w wariancie mikoryzowanym grzybnią *B. pinicola*, w którym odnotowano obecność 6 morfotypów (ryc. 2). Najwyższy udział w kolonizacji mikoryzowej tych sadzonek miał grzyb *S. luteus*, a udział mikoryz tworzonych przez *B. pinicola* wynosił 20%.

U sadzonek mikoryzowanych grzybnią *H. olivaceoalbus* udział mikoryz tworzonych przez ten grzyb wynosił około 17%. Najwyższy udział (ok. 45%) miały

Tabela 1. Grzyby mikoryzowe tworzące mikoryzy u sadzonek sosny na badanych powierzchniach oraz wielkości ITS i RFLP

Table 1. Mycorrhizal fungi forming mycorrhizas in Scots pine seedlings on study plots and Table 1. Mycorrhizal fungi forming mycorrhizas in Scots pine seedlings on study plots and ITS and RFLP values

Pochodzenie Origin	Gatunek grzyba* Fungal species*	Wielkość fragmentu DNA (pary zasad) Size of DNA fragment (base pairs)			
		ITS	<i>Hinf</i> I	<i>Mbo</i> I	<i>Taq</i> I
1. Bełchatów	<i>Suillus bovinus</i>	792	203 139 81 46 30	247 154 75	187 84 60
2. Bełchatów	<i>Suillus bovinus</i>	784	205 140 83 50 34	241 148 68	185 79 61
3. Bełchatów	<i>Suillus variegatus</i>	710	332 152 108 77	370 250 59	265 57
4. Garwolin	<i>Boletus pinicola</i>	829	238 218 140 121	247 159 69	280 97 85 60
5. Garwolin	<i>Cortinarius tubeaformis</i>	613	289 167 152	226 219 105 55	247 152 75 58
6. Garwolin	<i>Tricholoma</i> spp.	685 603	349 296 269 203 152	378 239 63	277 259 58
7. Garwolin	<i>Suillus luteus</i>	709	197 137 78 45 30	242 148 72	183 82 60
8. Garwolin	<i>Thelephora terrestris</i>	570	323 247 106 50	378 236 64 55	277 256 224 58 45
9. Garwolin	<i>Hygrophorus olivaceoalbus</i>	606	215 213 197 85 61	300 272 202 134	311 244 210 144

* najbliższy danemu gatunkowi grzyba wzór RFLP (wg Kåren i in. 1997 oraz Tammi i in. 2001)

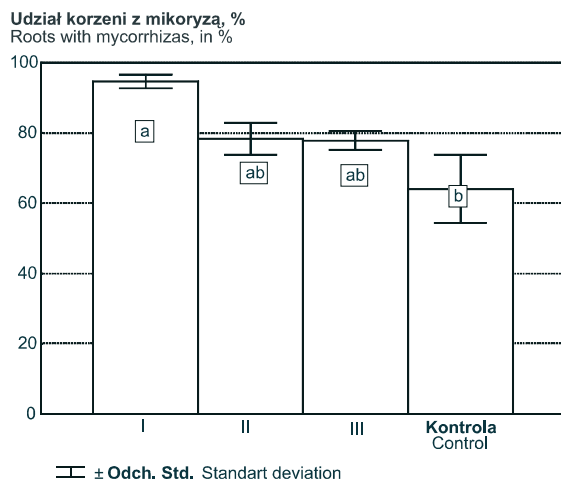
* RFLP pattern closest to a given fungi (acc. to Kåren et al. 1997 and Tammi et al. 2001)

Tabela 2. Opis morfologiczny badanych mikoryz i gatunek grzyba tworzący dany typ mikoryzy, zidentyfikowany dzięki metodzie PCR RFLP

Table 2. Morphological characterisation of studied mycorrhizae and fungal species forming a specified mycorrhizal type identified by the PCR RFLP method

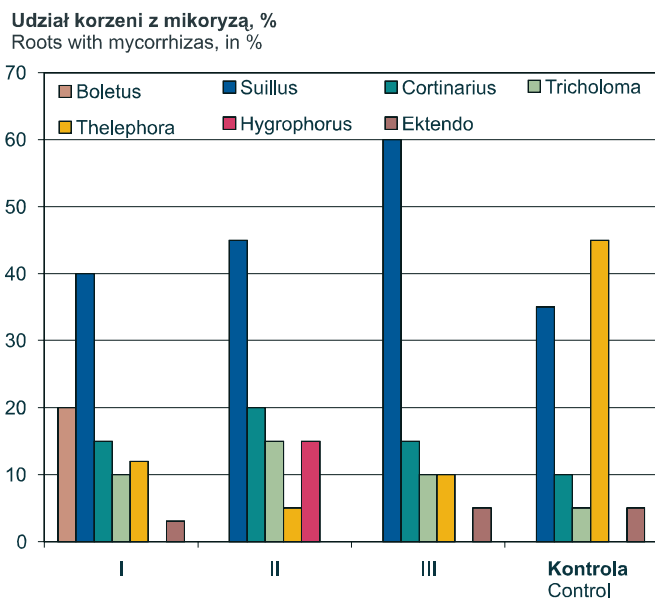
Nr morfotypu i pochodzenie No. of morpho-type and origin	Opis morfotypu Morphotype description	Gatunek grzyba Fungal species
1. Bełchatów	mikoryzy pojedyncze, dichotomiczne lub wielokrotnie złożone, zwykle ciemne z jasnymi wierzchołkami, otoczone luźną, białą mufką grzybniovą o strukturze puchu monopodial to dichotomous to multiple-dichotomous mycorrhizas, dark brown with bright tops, loose, fluffy hyphae	<i>Suillus bovinus</i>
2. Bełchatów	mikoryzy pojedyncze, nabrzmiale, barwy jasnopomarańczowej, liczne sznury grzybniove białej barwy monopodial, bright orange, swollen mycorrhizas, numerous white strands	<i>Suillus bovinus</i>
3. Bełchatów	mikoryzy pojedyncze lub trójdzielnie rozgałęzione, barwa kremowa do jasnopomarańczowej, mufka grzybniova gładka, otoczona luźną grzybnią monopodial to tripodial mycorrhizas, cream to pale orange, mantle smooth with loose hyphae	<i>Suillus variegatus</i>
4. Garwolin	mikoryzy dichotomiczne lub pojedyncze, oplecione białą mufką grzybniovą, zbudowaną z delikatnej grzybni, barwa biała dichotomous or monopodial mycorrhizas, white mantle build from very delicate white hyphae	<i>Boletus pinicola</i>
5. Garwolin	mikoryzy tworzą grona, barwa pomarańczowa, luźna mufka grzybniova. Na powierzchni mikoryz występują bardzo liczne kryształy soli orange, cluster mycorrhizas, loose mantle. On mycoorrhiza's surface seen numerous crystals of salt	<i>Cortinarius tubeaformis</i>
6. Garwolin	mikoryzy wielokrotnie rozgałęzione barwy pomarańczowej, gładkie, otoczone siecią sznurów grzybniovych białej barwy multipodial, orange, smooth mycorrhizas numerous white strands	<i>Tricholoma</i> spp.
7. Garwolin	mikoryzy jasnopomarańczowe, groniaste, biała gruba mufka grzybniova i białe sznury grzybniove cluster mycorrhizas, white, thick mantle and white strands	<i>Suillus luteus</i>
8. Garwolin	mikoryzy białe, pomarańczowe do rudobrazowych, mufka gładka bez widocznej grzybni zewnętrznej, sznury grzybniove tej samej barwy co mikoryzy white, orange to red brownish mycorrhizas, smooth mantle, strands have the same colour like mycorrhizas	<i>Thelephora terrestris</i>
9. Garwolin	mikoryzy dichotomiczne i pojedyncze krótkie, otoczone białą, szecinkowatą grzybnią, grube sznury grzybniove dichotomous or monopodial, short mycorrhizas with white, stiff hyphae radiating from mantle, thick strands	<i>Hygrophorus olivaceoalbus</i>

mikoryzy tworzone przez *S. luteus*. U sadzonek mikoryzowanych grzybnią *S. luteus* udział mikoryz tego grzyba wynosił 60%. Udział mikoryz tworzonych przez grzyby autochtoniczne z rodzaju *Tricholoma* i *Cortinarius* u sadzonek mikoryzowanych we wszystkich wariantach kształtował się na podobnym poziomie, a dominującym morfotypem były mikoryzy tworzone przez *S. luteus*.



Ryc. 1. Liczebność mikoryz ogółem u sadzonek sosny na powierzchni w Garwolinie w trzech wariantach zabiegowych, mikoryzowanych: I – grzybnia *Boletus pinicola*, II – grzybnia *Hygrophorus olivocealbus*, III – grzybnia *Suillus luteus*, Kontrola – niemikoryzowana. Istotność różnic wskazują odmienne litery, $n=10$

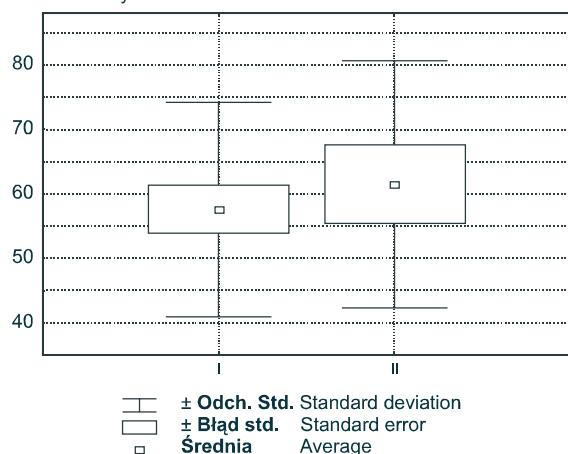
Fig. 1. Fig. 1. Number of mycorrhizas in the Scots pine seedlings on the Garwolin plot in three treatments inoculated with: I – *Boletus pinicola* mycelium, II – *Hygrophorus olivocealbus* mycelium and III – *Suillus luteus* mycelium; Control – not inoculated. Significance of differences are described by different letters, $n=10$



Ryc. 2. Różnorodność mikoryz u sadzonek sosny w trzech wariantach zabiegowych, mikoryzowanych: I – grzybnia *Boletus pinicola*, II – grzybnia *Hygrophorus olivocealbus*, III – grzybnia *Suillus luteus*, Kontrola – niemikoryzowana

Fig. 2. Diversity of mycorrhizas in the Scots pine seedlings in three treatments inoculated with: I – *Boletus pinicola* mycelium, II – *Hygrophorus olivocealbus* mycelium and III – *Suillus luteus* mycelium. Control – not inoculated

Udział korzeni z mikoryzą w %
Roots with mycorrhizas in %



Ryc. 3. Liczebność mikoryz (ogółem) na powierzchni badawczej w Belchatowie. I – sadzonki z odkrytym systemem korzeniowym, II – sadzonki z zakrytym systemem korzeniowym

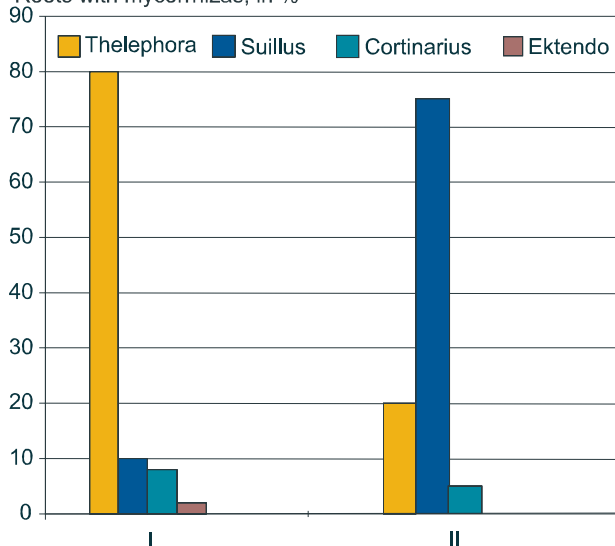
Fig. 3. Number of mycorrhizas (total) on the Belchatów study plot. I – bare-root seedlings, II – containerised seedlings

Sadzonki niemikoryzowane charakteryzowały się najwyższym – około 45% udziałem mikoryz tworzonych przez *Thelephora terrestris*.

Na powierzchni marginalnej w Belchatowie wyższą (ok. 62%) liczebność mikoryz stwierdzono u sadzonek z zakrytym systemem korzeniowym w porównaniu z sadzonkami pochodzącymi z otwartej szkółki leśnej (57%). Różnice nie były jednak statystycznie istotne (ryc. 3).

Udział mikoryz tworzonych przez *T. terrestris* u sadzonek z odkrytym systemem korzeniowym wynosił 80%, a przez *S. luteus* tylko 10%. U sadzonek z zakrytym systemem korzeniowym mikoryzy *T. terrestris* występowały na poziomie 20%, zaś mikoryzy *S. luteus* stanowiły około 75 % wszystkich mikoryz (ryc. 4).

Udział korzeni z mikoryzą, %
Roots with mycorrhizas, in %



Ryc. 4. Różnorodność mikoryz u sadzonek sosny wysadzonych na powierzchni badawczej w Belchatowie. I – sadzonki z odkrytym systemem korzeniowym, II – sadzonki z zakrytym systemem korzeniowym

Fig. 4. Diversity of mycorrhizas in the Scots pine seedlings outplanted on the Belchatów study plot. I – bare-root seedlings, II – containerised seedlings

4. DYSKUSJA

Ektomikoryzy w zależności od rodzaju czy gatunku grzyba biorącego udział w kolonizacji mikoryzowej mogą się różnić, zarówno pod względem sprawności w dostarczaniu składników pokarmowych, jak i promowaniu wzrostu drzew (Burgess i in. 1993). Zależy to nie tylko od rozmiaru kolonizacji, ale również od rozwoju strzępek grzybni w glebie (Colpaert 1999). Znaczenie grzybni w glebie było badane przez Read'a (1992), który obliczył, że łączna długość strzępek *Suillus luteus* w 1g suchej gleby wynosi około 200 m.

A zatem wzbogacanie zbiorowiska grzybów mikoryzowych o te gatunki, które tworzą długą i obfitą sieć grzybniową powinno poprawiać jakość roślin i umożliwić im szybszą adaptację do nowych, często trudnych warunków środowiskowych. Zastosowanie szczepionek mikoryzowych spowodowało zwiększenie różnorodności mikoryz, a także ograniczenie mikoryz tworzonych przez *Thelephora terrestris* – gatunek uznawany za wszędobylski, o stosunkowo niskich wymaganiach względem rośliny, lecz jednocześnie przynoszący jej mniej korzyści niż inne grzyby ektomikoryzowe (Marx i in. 1970, Molina i Trappe 1984). Bending i Read (1995) wykazali, że w poziomie próchnicznym gleby grzybnia ekstrapatrykalna *Suillus bovinus* może redukować zawartość niektórych składników pokarmowych w znacznie wyższym stopniu niż np. grzybnia *T. terrestris*.

U sadzonek wysadzonych na powierzchni w Garwolinie udział aplikowanych grzybów mikoryzowych w strukturze zbiorowiska mikoryz na poziomie 20% wydaje się być dobrym wynikiem, szczególnie, że doświadczenie prowadzone było w warunkach naturalnych, w których wielość interakcji między różnorakimi elementami środowiska glebowego jest bardzo duża. Według Marxa (1980), badającego grzyb *Pisolithus tinctorius*, udział mikoryz niższy niż 24% można uznać za słaby. Należy jednak zauważyć, że autor stosował taką miarę dla gleby, która była uprzednio fumigowana środkami chemicznymi. Poza tym, *P. tinctorius* należy do grzybów wytwarzających ogromną masę zarodników, stąd też jego możliwości kolonizacyjne są nieporównanie większe od zdolności tworzenia mikoryz przez badane gatunki grzybów.

Wysoki udział mikoryz tworzonych przez *S. luteus* u sadzonek z zakrytym systemem korzeniowym na powierzchni w Bełchatowie wskazuje, że korzenie tych sadzonek są łatwiej zasiedlane przez autochtoniczne grzyby mikoryzowe. Tworzenie mikoryz z *S. luteus* jest w tym wypadku szczególnie korzystne (gleba marginalna, użytkowana przez kopalnię węgla brunatnego), gdyż grzyb ten reprezentuje „długi” typ eksploracji gleby (Agerer 2001).

Ocena danego gatunku grzyba pod względem korzyści dla rośliny, które ocenia się głównie na podstawie wzrostu i przeżywalności sadzonek, zależy od właściwej i sprawnej identyfikacji partnera grzybowego. A ta wciąż nastęrcza wiele problemów. Identyfikacja mikoryz na podstawie morfologicznych czy anatomicznych cech obciążona jest dużym błędem i dotychczas pozwoliła na identyfikację tylko 18 spośród 68 badanych morfotypów (Fransson i in. 2000).

Wynika to stąd, że niektóre grzyby mogą tworzyć różne formy mikoryz na tym samym systemie korzeniowym. Natomiast wady stosowanej do identyfikacji metody RFLP wynikają przede wszystkim z braku odpowiednich wzorców oraz polimorfizmu wśród grzybów mikoryzowych (uzyskuje się różne wzory restrykcyjne dla różnych szczepów tego samego gatunku). Wśród mikoryzologów coraz częściej pojawia się opinia, że zastąpienie metody RFLP sekwencjonowaniem DNA ułatwi żmudny proces identyfikacji grzybów tworzących ektomikoryzy (Haug 2002).

Składam serdeczne podziękowanie panu dr. Andrzejowi Pałucha za wykonanie analiz PCR RFLP umożliwiających identyfikację grzybów ektomikoryzowych.

Praca została złożona 8.06.2004 r. i przyjęta przez Komitet Redakcyjny 16.12.2004 r.

ECTOMYCORRHIZAL STRUCTURE ON SCOTS PINE SEEDLINGS INOCULATED WITH CHOSEN MYCORRHIZAL SPECIES AND OUT PLANTED IN POST AGRICULTURAL AND MARGINAL LAND

Summary

The mycorrhizal community structure in root systems of 2-year old *Pinus sylvestris* L. seedlings was studied. Identification of mycorrhizas was done on the basis of morphotyping and PCR RFLP methods. Among 22 morphotypes distinguished on morphological appearances only 9 were identified with success based on PCR RFLP method.

Seedlings of Scots pine, growing under post agricultural land conditions on sandy soil, were subjected to inoculation with three mycorrhizal species: *Suillus luteus*, *Boletus pinicola* and *Hygrophorus olivaceoalbus*. Five months after inoculation, the highest percentage of ectomycorrhizal short roots had seedlings, which were inoculated with *B. pinicola*. The percentage of roots colonised by inoculated fungi in all treatments was about 20%.

On marginal land, where bare-root and containerised Scots pine seedlings were outplanted higher percentage of mycorrhizas was observed on roots of containerised seedlings. On fine root of bare-root seedlings dominated were mycorrhizas formed by *Thelephora terrestris* and *Suillus luteus* on roots of containerised seedlings.

The results show that inoculation could be an attractive method for increasing diversity of mycorrhizas on "special" lands.

LITERATURA

- Agerer R. 1987-1997: Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn Verlag, Schwäbisch- Gmünd.
Agerer R. 2001: Exploration types of ectomycorrhizae. Mycorrhiza, 11/2: 107-114.
Bending G. D., Read D. J. 1995: The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. V. Foraging behaviour and translocation of nutrients from exploited organic matter. New Phytol., 130: 401-409.

- Bruggess T. I., Malajczuk N., Groves T. S. 1993: The ability of 16 ectomycorrhizal fungi to increase growth and phosphorus uptake of *Eucalyptus globulus* Labill. and *E. diversicolor*. *Plant Soil*, 153: 155-164.
- Castellano M. A., Molina R. 1989: Mycorrhizas. [W:] *The container tree manual*, vol 5: The biological component: nursery pests and mycorrhizas (Landis T. D., Tinus R. W., McDonald S. E., Barnett Jp. eds). USDA Forest Service Agriculture Handbook Washington DC, 674: 101-167.
- Colpaert J. V. 1999: Thelephora. [W:] *Ectomycorrhizal Fungi. Key Genera in Profil.* (J. W.G. Cairney, S. M. Chambers eds), Springer, Berlin.
- Dodd J. C., Thomson B. D. 1994: The screening and selection of inoculant arbuscular-mycorrhizal and ectomycorrhizal fungi. *Plant Soil* 159: 149-158.
- Dominik T. 1961: Badania nad przeszczepianiem mikrobiocenoz gleb leśnych na tereny rolne. *Prace Inst. Bad. Leś.*, 210: 103-162.
- Fransson P. M. A., Taylor A. F. S., Finlay R. D. 2000: Effects of continuous optimal fertilization on below-ground ectomycorrhizal community structure in a Norway spruce forest. *Tree Physiology* 20: 599-606.
- Gardes M., Bruns T. 1993: ITS primers with enhanced specificity for *Basidiomycetes* – application to the identification of mycorrhizas and rusts. *Mol. Ecol.*, 2:113-118.
- Haug I. 2002: Identification of *Picea*-ectomycorrhizae by comparing DNA-sequences. *Mycol. Pro.*, 1(2): 167-178.
- Heijden L. 2000: Mycorrhizal symbioses of *Salix repens*. Thesis. University of Wageningen.
- Ingleby K., Mason P. A., Last F. T., Fleming L. V. 1990: Identification of ectomycorrhizas. Research publication no.5. Institute of Terrestrial Ecology. London: HMSO.
- Kåren O., Hogberg N., Dahlberg A., Jonsson L., Nylund J. E. 1997: Inter- and intraspecific variation in the ITS-region of rDNA of ectomycorrhizal fungi in Fennoscandia as detected endonuclease analysis. *New Phytol.*, 142: 577-585.
- Kowalski S. 1997: Praktyczne aspekty mikrotrofizmu w szkółkach leśnych. *Sylvan* 6: 5-15.
- Kropp B. R., Langlois G. C. 1990: Ectomycorrhiza in reforestation. *Can. J. For. Res.*, 20: 438-451.
- Marx D. H. 1971: Ectomycorrhizae as biological deterrents to pathogenic root infections. Mycorrhizae. Proceedings of The First North American Conference on Mycorrhiza - April 1969. Misc.(Publication 1189 U. S. Department of Agriculture- Forest Service: 81-96.
- Marx D. H. 1980: Ectomycorrhizal fungus inoculation: a tool for improving forestation practices. [W:] *Tropical mycorrhiza research* (P. Mikola eds). Oxford University Press, New York, 13-71.
- Molina R., Trappe J. P. 1984: Mycorrhiza management in bare-root nurseries. [W:] *Forest nursery manual production of bare-root seedlings* (M. Duryea, T. D. Landis eds). Nijhoff/Junk, The Hague, 211-223.
- Parlade J., Alvarez I. F., Pera J. 1996a: Ability of native ectomycorrhizal fungi from northern Spain to colonize Douglas-fir and other introduced conifers. *Mycorrhiza*, 6: 51-55.
- Parlade J., Alvarez I. F., Pera J. 1996b: Inoculation of containerized *Pseudotsuga menziesii* and *Pinus pinaster* seedlings with spores of five species of ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 6: 237-245.
- Read D. J. 1992: The mycorrhizal mycelium. [W:] *Mycorrhizal function* (M. F Allen ed.). Chapman and Hall, New York, 102-132.
- Tammi H., Timonen S., Sen R. 2001: Spatiotemporal colonization of Scots pine roots by introduced and indigenous ectomycorrhizal fungi in forest humus and nursery Sphagnum peat microcosm. *Can. J. of For. Res.*, 31 (20): 746-756.
- Visser S 1995: Ectomycorrhizal fungal succession in jack pine stands following wildfire. *New Phytol.*, 129: 389-401.