

DOROTA HILSZCZAŃSKA

**Stan symbiozy mikoryzowej i wzrost
inokulowanych siewek sosny
Pinus sylvestris L. rosnących w szklarni
w warunkach różnej wilgotności podłoża**

**Mycorrhizal development and growth of inoculated Scot pine seedlings
in different soil moisture conditions in the glasshouse**

Abstract. The level mycorrhiza development in root systems and growth on three-months old seedlings of *Pinus sylvestris* L. was studied. The plants were inoculated with three common in nursery mycorrhizal fungi and grown in two watering regimes. The percentage of mycorrhizal short roots and growth parameters for plants were assessed.

Key words: Scot pine, mycorrhiza, watering, inoculation

Wstęp

Symbioza mikoryzowa pełni ważną rolę w rozwoju drzew leśnych już od stadium kilkutygodniowej siewki [3]. Wzrost korzeni modyfikowany jest przez różne czynniki środowiska o charakterze fizycznym i chemicznym, jak rodzaj i gatunek gleby, wilgotność i napowietrzenie, temperaturę, odczyn gleby. Oznacza to, że tworzenie i funkcjonowanie mikoryz w istotny sposób jest warunkowane przez wymienione czynniki środowiska, nasilenie ich współdziałania, jak i czas oddziaływania.

W przypadku grzybów mikoryzowych zarówno susza jak i nadmierna wilgotność podłoża mogą być czynnikami ograniczającymi tworzenie mikoryz. Theodoru [14] nie odnotował żadnych mikoryz w glebie nasączonej do pełnej pojemności wodnej, zaś w okresowo nawadnianej ektomikoryzy występowały rzadko [4]. Shuja i in. [12] odnotowali, że korzenie topoli *Populus euroamericana* rosnącej wzdłuż kanału wodnego były pozbawione mikoryz, podczas gdy rosnące w większej od niego odległości miały zarówno endo- jak i ektomikoryzy.

Celem tej pracy była ocena wpływu różnej częstości nawadniania na rozwój mikoryz oraz parametry wzrostu siewek sosny z udziałem trzech wybranych gatunków grzybów.

Materiał i metody

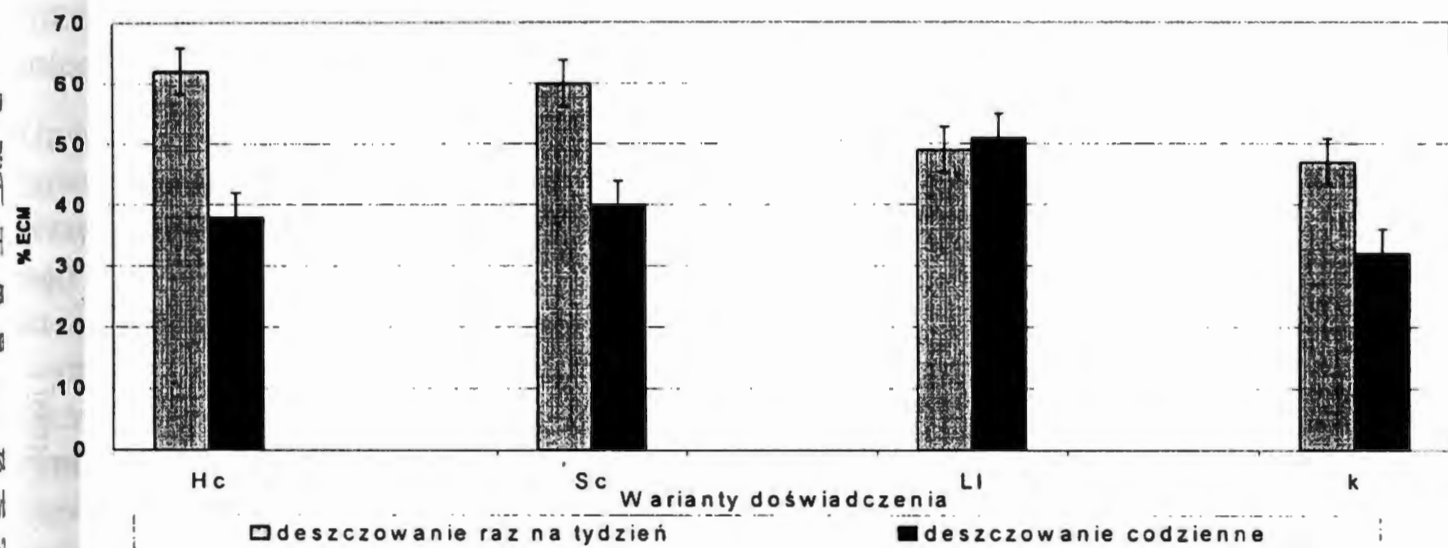
Nasiona sosny zwyczajnej pierwszej klasy jakości pochodzące z Nadl. Chojnów podległy powierzchniowej sterylizacji w H_2O_2 przez 30 minut wysiano w pojemnikach z pleksioglasu o wymiarach 14x14x2,5 cm [10], wypełnionych wcześniej autoklawowanym ($120^{\circ}C$, 1 kg/cm^2) przez jedną godzinę substratem torfowo-wermikulitowym (1:1, v:v) o pH 5,5. Nasiona starano się wybrać tak, aby liczebność nasion o pstrej i czarnej barwie pokryw była zbliżona [2]. Siewki wzrastały w temperaturze powietrza $25^{\circ}C$ i wilgotności względnej powietrza wynoszącej 55%.

Po 4 tygodniach od wschodów siewki inokulowano wg metody Pachlewskiego [8], wstrzykując do każdego pojemnika w rejonie korzeni po 25 ml zmiksowanej grzybni hodowlanej na pożywce stałej MMN [7], rozcieńczonej w wodzie destylowanej w stosunku 1:3. W wariantach kontrolnych wstrzykiwano po 25 ml czystej wody destylowanej. Inokulum stanowiły 6 tygodniowe kultury grzybów: *Hebeloma crustuliniforme* (Bull.) Qué. (IBL L 6) – wariant 1, *Scleroderma citrinum* Pers. (IBL S 32) – wariant 2, oraz *Laccaria laccata* (Scop. ex. Fr.) Berk. et Br. (IBL L 5) – wariant 3.

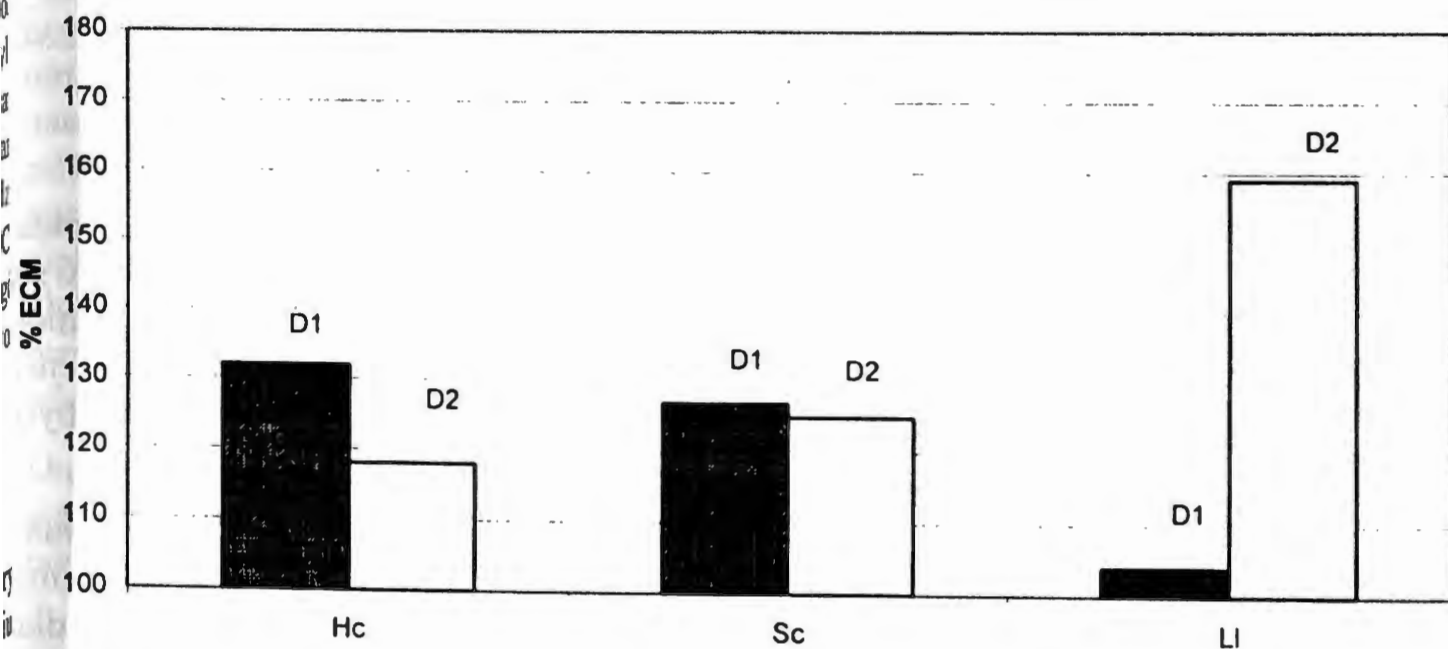
W każdym wariantcie zastosowano po 20 pojemników z sosną (powtórzeń). Tak przygotowane siewki nawadniano stosując dwie różne dawki okresowe: D1 – deszczując je wodą o pH 6,6 raz na tydzień w dawce 7 mm i D2 – codziennie tą samą dawką (7 mm), czyli 4 mm/tydzień. W D1 siewki rosły w warunkach stresu wodnego, natomiast w D2 w warunkach nadmiernej wilgotności podłoża. Po zabiegu siewki rosły w szklarni z otwieranym dachem. Po upływie trzech miesięcy na systemach korzeniowych siewek potwierdzono mikroskopowo obecność ektomikoryz oraz określono frekwencję ektomikoryz (% ECM). Wskaźnik ten obliczano jako relację między liczbą ektomikoryzowych korzeni a ogólną liczbą wszystkich korzeni krótkich [9]. Wykonano również ocenę parametrów wzrostowych, wysokości i objętości pędu siewek [6, 13].

Wyniki i dyskusja

Deszczowanie stosowane raz w tygodniu sprzyjało tworzeniu większej liczby mikoryz siewek mikoryzowanych grzybniami *H. crustuliniforme* i *S. citrinum* w porównaniu z siewkami z wariantu kontrolnego oraz do siewek mikoryzowanych grzybem *L. laccata*. Różnice w siewkach deszczowanych raz w tygodniu różnice w liczbie mikoryz u siewek mikoryzowanych *H. crustuliniforme* a *S. citrinum*, nie były istotne statystycznie. (ryc. 1), podobnie jak między wariantem z *L. laccata* i kontrolnym. Istotność różnic w liczbie mikoryz u siewek odnotowano między wariantami mikoryzowanymi *H. crustuliniforme* a *L. laccata* oraz między wariantem kontrolnym a wariantem z *L. laccata*. Siewki deszczowane codziennie miały podobną liczbę mikoryz u siewek w porównaniu z siewkami z wariantu kontrolnego. Różnice między liczbą mikoryz w wariantcie kontrolnym a wariantami mikoryzowanymi były istotne statystycznie. Siewki mikoryzowane *L. laccata* miały większą liczbę mikoryz, niż siewki mikoryzowane *H. crustuliniforme* i *S. citrinum*, różnice w liczbie mikoryz były statystycznie istotne między wariantem *L. laccata* i *H. crustuliniforme* oraz między wariantem *L. laccata* a wariantem kontrolnym. Deszczowanie codzienne wpłynęło na zmniejszenie liczby mikoryz we wszystkich wariantach z wyjątkiem mikoryzowanego



RYC. 1. Wartości wskaźnika kolonizacji mikoryzowej (% ECM) u siewek w wariantach mikoryzowanych wybranymi grzybami (Hc – *Hebeloma crustuliniforme*, Sc – *Scleroderma citrinum*, LI – *Laccaria laccata*, K – kontrola; niemikoryzowana) i deszczowanych dawką 7 m codziennie i raz na tydzień (test R/R Tukey'a, n = 7, I – błąd standardowy)

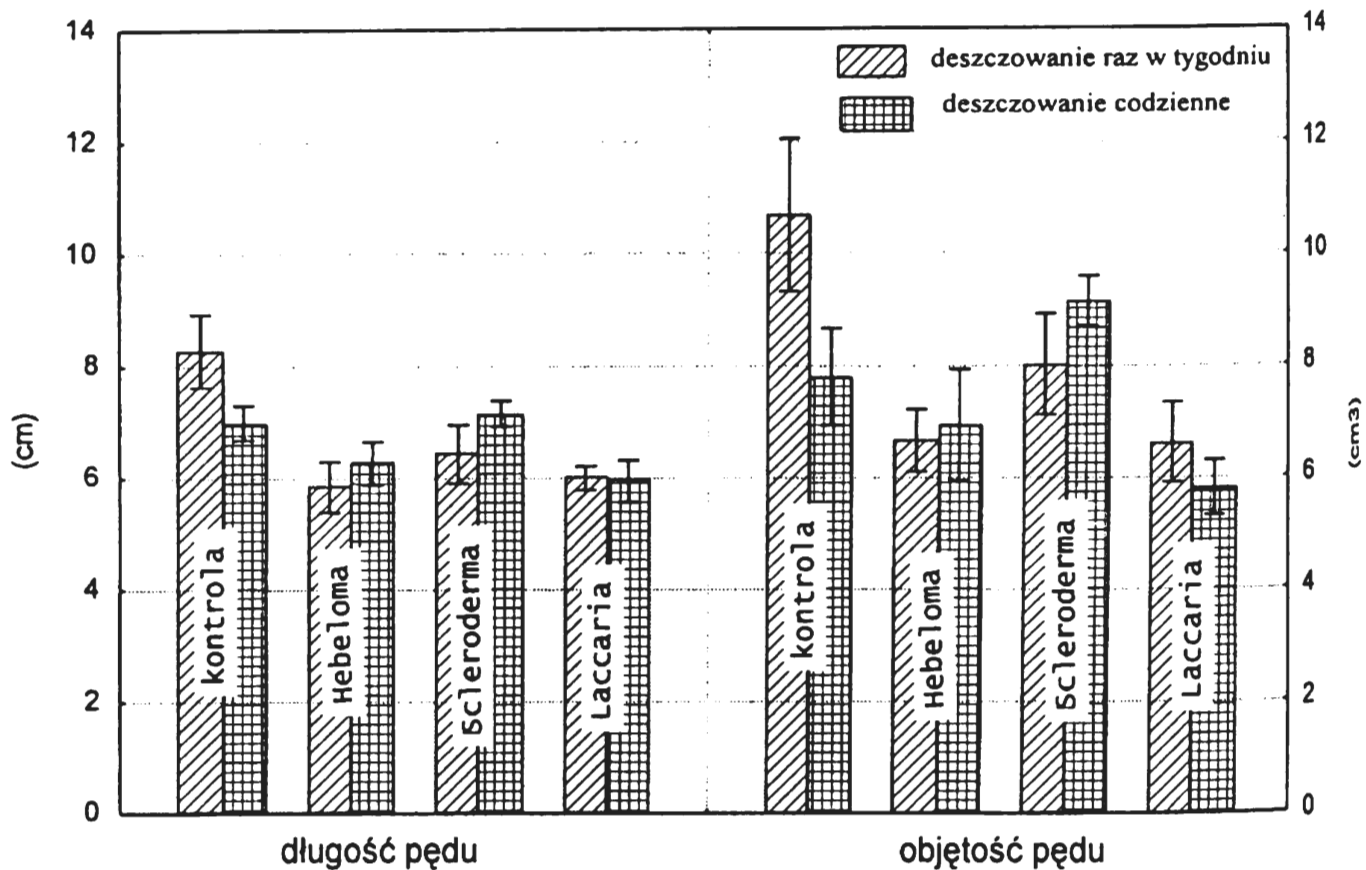


RYC. 2. Wpływ wilgotności podłoża na efektywność sztucznej mikoryzacji w odniesieniu do wariantu kontrolnego. D1 – deszczowanie raz w tygodniu, D2 – deszczowanie codzienne, pozostałe oznaczenia jak na rycinie 1

laccata. Różnice w liczbie mikoryz między wariantem niedoboru a wariantem nadmiaru deszczowania nie były istotne statystycznie.

Wartości badanych cech wzrostu (długość i objętość pędu) przedstawia rycina 3.

Pod względem długości pędu największą wartość tej cechy uzyskano w wariacie kontrolnym (średnio 8,3 cm), deszczowanym raz w tygodniu i w wariacie mikoryzowanym grzybem *S. citrinum* (średnio 7,2 cm), deszczowanym codziennie. Codzienne deszczowanie wpłynęło na zmniejszenie długości pędu w wariacie kontrolnym, średnio o 16%. U siewek



RYC. 3. Średnie wielkości ocenianych parametrów wzrostu siewek w wariantach różnej częstości deszczowania (test R/R Tukey'a, $n = 7$, I – błąd standardowy)

mikoryzowanych długość pędu była mniejsza niż u siewek niemikoryzowanych. Wprowadzenie szczepionki mikoryzowej, w wariantcie deszczowanym raz w tygodniu wyraziło się istotnym zmniejszeniem długości pędu siewek, niezależnie od gatunku grzyba. Najmniejsze wartości długości pędu wykazały siewki mikoryzowane *H. crustuliniforme* (5,8 cm), największe zaś mikoryzowane *S. citrinum* (6,4 cm). Różnice między średnimi nie były jednak statystycznie istotne.

W wariantcie deszczowanym codziennie najkrótsze pędy cechowały siewki mikoryzowane *L. laccata* (średnia 5,9 cm), najdłuższe zaś mikoryzowane *S. citrinum* (średnia 7,2 cm), jednak różnice między tymi średnimi nie były istotne statystycznie. Jedynie w przypadku mikoryzacji grzybem *S. citrinum* można stwierdzić pewien korzystny wpływ nadmiernego deszczowania na wartość tej cechy, w porównaniu z deszczowaniem raz w tygodniu (różnice na granicy istotności).

Pod względem objętości pędu tendencje w reakcji siewek na wprowadzone do podłoża inokulum grzybów mikoryzowych oraz deszczowanie były analogiczne jak w przypadku długości pędu, stwierdzono jedynie większe zróżnicowanie między tymi zmiennymi. Cechą różnicującą była w tym przypadku średnica siewek w szyi korzeniowej (siewki mogły być bardziej wysmukłe lub bardziej krępe). Siewki z wariantu deszczowanego raz w tygodniu cechowała największa objętość pędu. Wartość tej cechy różniła się statystycznie istotnie od wartości we wszystkich pozostałych wariantach. Deszczowanie codzienne wpłynęło na zmniejszenie objętości pędu o 26%. Mikoryzacja siewek grzybem *S. citrinum* wpłynęła na wzrost wartości tego parametru w porównaniu z innymi grzybami, jednak

różnice statystycznie istotne odnotowano tylko w przypadku deszczowania codziennego między *S. citrinum* a *L. laccata*.

Uzyskane wyniki wskazują, że różne gatunki grzybów wykazują odmienną wrażliwość na nawadnianie. Bougher i Malajczuk [1] odnotowali, że kolonizacja korzeni przez *L. laccata* wzrastała wraz ze wzrostem wilgotności. W badaniach prowadzonych przez Stenström [13] nad wpływem nawadniania na tworzenie ektomikoryz u sosny w warunkach *in vitro*, *L. laccata*, *H. crustuliniforme* i *Thelephora terrestris* nie były wrażliwe na nawadnianie. Taki wynik może stanowić odpowiedź, dlaczego właśnie te gatunki grzybów tak często spontanicznie i sprawnie kolonizują korzenie siewek w szkółkach leśnych. Wyniki uzyskane w tym doświadczeniu potwierdziły brak wrażliwości grzybni *L. laccata* na dużą wilgotność, siewki inokulowane tym grzybem miały zbliżoną wielkość parametrów wzrostu i liczbę mikoryz (około 50%) niezależnie od poziomu wilgotności podłoża.

Podobny wynik uzyskał Mason i in. [6] u siewek *Eucalyptus globulus* inokulowanych *Laccaria fraterna*, gdzie wskaźnik kolonizacji mikoryzowej był wyższy niż 50%, zarówno na podłożu z niedoborem, jak i nadmiarem wilgotności.

Zahamowanie wzrostu u mikoryzowanych sztucznie siewek może się wiązać z dużymi zdolnościami adaptacyjnymi grzybów mikoryzowanych charakterystycznych dla wieku juwenilnego sosny do różnych warunków środowiska glebowego. Stąd hamowanie wzrostu umikoryzowanych siewek, szczególnie w szkółkach leśnych powinno uważać się za naturalne – być może obligatoryjne – zjawisko nie mające związku z chorobą. Niższa liczba mikoryz u siewek inokulowanych grzybnią *H. crustuliniforme* i *S. citrinum* wskazuje na wyższą wrażliwość tych gatunków na zwiększoną wilgotność. Stwierdzono jednak, że niektóre gatunki grzybów o hydrofobowej grzybni mogą tworzyć powietrzne kieszenie w glebie, co pozwala na rozszerzanie zasięgu grzybni ekstramatrykalnej [15]. W takich warunkach grzyby mikoryzowane są zdolne przetrwać okresy nawodnienia bez obniżenia zdolności do kolonizacji korzeni.

Otrzymane wyniki sugerują, że możliwa jest selekcja grzybów mikoryzowych o zróżnicowanej tolerancji wodnej, kiedy mikoryzowane siewki sosny stosowane będą do zalesień powierzchni wilgotnych lub narażonych na okresowe zalewanie.

Zakład Fitopatologii Leśnej
Instytut Badawczy Leśnictwa
ul. Bitwy Warszawskiej 1920 r. nr 3
02-362 Warszawa

Literatura

1. Bougher N.L., Malajczuk N., 1990. Effects of high moisture on formation of ectomycorrhizas and growth of karri (*Eucalyptus diversicolor*) seedlings inoculated with *Descolea maculata*, *Pisolithus tinctorinus* and *Laccaria laccata*. *New Phytol.* 114: 87-91.
2. Grzywacz A., 1979. Mechanizm odporności nasion *Pinus sylvestris* L. na pasożytniczą zgorzel przedwzrostową. *Zesz. Nauk. SGGW Rozprawy Naukowe* Nr 118: 65.

3. **Kowalski S.**, 1997. Praktyczne aspekty mikrotrofizmu w szkółkach leśnych. Sylwan 6: 5-15.
4. **Lodge D.J.**, 1986. Effects of soil moisture, drainage, and microbial interactions on formation of endo- and ectomycorrhizae in eastern cottonwood. *Phytopathology* 76: 11109. (Abstract).
5. **Marx D.H.**, 1991. The practical significance of ectomycorrhizae in forest establishment. In: *Ecophysiology of ectomycorrhizae of forest trees*. The Marcus Wallenberg Found. Symp. Proceed., 7: 54-90.
6. **Mason P.A., Ibrahim K., Ingleby K., Munro R.C., Wilson J.**, 2000. Mycorrhizal development and growth of inoculated *Eucalyptus globulus* (Labill.) seedlings in wet and dry conditions in the glasshouse. *For. Ecol. Manage.*, t. 128: 269-277.
7. **Molina R., Palmer J.G.**, 1982. Isolation, maintenance, and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. In: *Methods and principles of mycorrhizal research*. Edited by N.C. Schenck. American Phytopathological Society, St. Paul, Mn, pp. 115-129.
8. **Pachlewski R.**, 1995. Technologia inokulum mikoryzowego i technika mikoryzacji sadzonek sosny i świerka w szkółkach leśnych. *Prace IBL, Warszawa-Sękocin*.
9. **Parlade J., Alvarez I.F., Pera J.**, 1996b. Inoculation of containerised *Pseudotsuga menziesii* and *Pinus pinaster* seedlings with spores of five species of ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 6: 237-245.
10. **Peterson R.L., Chacravarty P.**, 1994. Techniques in Synthesising Ectomycorrhizae. In: *Techniques for Mycorrhizal Research*. Ed. Norris, Read and Varma, Academic Press.
11. **Ruehle J.L.**, 1982. Field performance of container-grown loblolly pine seedlings with specific ectomycorrhizae on a reforestation site in South Carolina. *South. J. Appl. For.* 6: 30-33.
12. **Shuja N., Gilmi U., Kahn A.G.**, 1971. Mycorrhizal associations in some angiosperm trees around New University Campus, Lahore. *Pakistan J.For.* 21: 437-457.
13. **Stenström E.**, 1990. Ecology of Mycorrhizal *Pinus sylvestris* Seedlings – Aspects of colonization and growth. PH.D. Ths., Uppsala, SLU, Szwecja.
14. **Theodoru C.**, 1978. Soil moisture and the mycorrhizal association of *Pinus radiata*. *Plant Don. Soil. Biol. Biochem.* 10: 33-37.
15. **Unestam T., Sun Y.P.**, 1995. Extramatrical structures of hydrophobic and hydrophilic ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 5: 301-311.

Summary

Mycorrhizal development and growth of inoculated Scot pine seedlings in different soil moisture conditions in the glasshouse

This study describes the effect of soil moisture availability on mycorrhizal development and growth of seedlings inoculated with three different fungi. The information generated by this study should enable the nurseryman to target which mycorrhizal fungi select as suitable inoculants for dry and wet sites. Mycorrhizal and non-mycorrhizal seedlings of Scot pine were subjected to two different watering regimes from six weeks after inoculation. Of the tree fungi used as inoculants, an isolate of *Laccaria laccata* (Scop. ex. Fr.) formed the same level of infection on seedlings that were watered in excess and that were water-stressed. *Hebeloma crustuliniforme* (Bull.) Quél. and *Scleroderma citrinum* Pers. achieved greatest mycorrhizal development on water-stressed seedlings where as they possessed less length and volume of stem.