

MARTA ALEKSANDROWICZ-TRZCIŃSKA, AGNIESZKA HAMERA-DZIERŻANOWSKA, HENRYK ŻYBURA, STANISŁAW DROZDOWSKI

Wpływ mykoryzacji i chitozanu na wzrost sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w szkółce i na uprawie

Effect of mycorrhization and chitosan on the growth of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in nursery and plantation

ABSTRACT

Aleksandrowicz-Trzcńska M., Hamera-Dzierżanowska A., Żybura H., Drozdowski S. 2013. Wpływ mykoryzacji i chitozanu na wzrost sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w szkółce i na uprawie. Sylwan 157 (12): 899-908.

The study evaluated the effect of inoculation with *Hebeloma crustuliniforme* and application of Biochikol 020 PC to the soil in three doses (single, double and triple) on the growth of Scots pine in the nursery and plantation. Both treatments stimulated the growth of seedlings. The effect of Biochikol was found only in the nursery irrespective of the used doses of the preparation. The effect of mycorrhization on pine growth was stronger compared to the application of Biochikol both in the nursery and plantation.

KEY WORDS

Biochikol 020 PC, chitosan, ectomycorrhiza, *Hebeloma crustuliniforme*, *Pinus sylvestris*

ADDRESSES

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

Agnieszka Hamera-Dzierżanowska ⁽¹⁾

Henryk Żybura ⁽²⁾

Stanisław Drozdowski ⁽²⁾ – e-mail: stanislaw_drozdowski@sggw.pl

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

⁽²⁾ Katedra Hodowli Lasu; SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159; 02-776 Warszawa

Wstęp

Technologia produkcji materiału sadzeniowego oraz zabiegi przeprowadzane w szkółce decydują o jakości sadzonek drzew, co wpływa na ich wzrost i przeżywalność w uprawach leśnych [Aleksandrowicz-Trzcńska, Buraczyk 2007-2008; Szabla 2007b]. Sadzonki mykoryzowane na etapie produkcji szkółkarskiej wykazują lepszy wzrost po wprowadzeniu na uprawy, szczególnie w miejscach, w których brak jest właściwych dla danego gatunku drzewa grzybów ektomykoryzowych [Garbaye i in. 1988; Villeneuve i in. 1991]. Lepiej tolerują stresy powodowane przez takie czynniki abiotyczne jak susza czy zanieczyszczenia przemysłowe [Garbaye, Churin 1997; Domínguez Núñez i in. 2006; Szabla 2007b]. Wykazują też lepsze zaopatrzenie w składniki mineralne w porównaniu z sadzonkami niemykoryzowanymi [Domínguez Núñez i in. 2006]. W niektórych badaniach nie wykazano jednak różnic we wzroście drzewek mykoryzowanych i niemykoryzowanych. Zdarza się również, że sadzonki mykoryzowane w pierwszych 2-3 latach przyrastają wolniej niż niemykoryzowane [Browning, Whitney 1992, 1993]. Najczęściej jest to tłumaczone koniecznością odprowadzania przez roślinę nawet do 30% produktów fotosyntezy do partnera grzybowego [Högberg, Högberg 2002; Högberg i in 2007].

Chitozan jest polisacharydem, pozyskiwanym na skalę przemysłową w procesie deacetylacji chityny. W naturze występuje w szkielecie zewnętrznym stawonogów (owadów i skorupiaków), ścianach komórkowych grzybów typu *Zygomycota*, w zielonych algach z rodzaju *Chlorella* sp., drożdżach i pierwotniakach [Rabea i in. 2003]. Jest substancją nietoksyczną, biodegradowalną, charakteryzującą się wysokimi właściwościami sorpcyjnymi i bioaktywnością [Raafat, Sahl 2009]. Chitozan jest stosowany w ochronie roślin jako elicitor wielu reakcji obronnych roślin. Zastosowanie tego związku indukowało wyzwalanie nabytej odporności systemicznej i reakcji nadwrażliwości, lignifikację ścian komórkowych, syntezę kwasu salicylowego, kalozy, fitoaleksyn i białek związanych z patogenezą [Pospieszny i in. 1991; Sathiyabama, Balasubramanian 1998; Zuppini i in. 2003]. Chitozan wykazuje również właściwości antywirusowe [Pospieszny i in. 1991], antybakteryjne [Li i in. 2011] i antygrzybowe [Hernández-Lauzardo i in. 2011].

Wiele badań wskazuje, że chitozan może być stosowany jako stymulator wzrostu i rozwoju roślin. Badania przeprowadzone przez różnych autorów obejmowały w sumie kilkadziesiąt gatunków roślin ogrodniczych, głównie ozdobnych, rzadziej warzywnych. Wykazano w nich, że rośliny traktowane chitozaniem były wyższe, miały większą średnicę i liczbę liści oraz wyższy indeks zazielenienia liści. Stosowanie chitozanu skracало fazę wegetatywną roślin i przyspieszało zakwitanie. Rośliny kwitły obficie, a kwiaty charakteryzowały się większą średnicą [Placek i in. 2009]. Tylko nieliczne badania dotyczą możliwości stosowania chitozanu w szkółkach leśnych. Był on badany pod kątem właściwości grzybobójczych i stymulowania odporności siewek i sadzonek [Duda i n. 2003; Stocka 2008]. Jako substancja czynna preparatu Biochikol 020 PC zalecany był do stosowania przeciwko pasożytniczej zgorzeli siewek i mączniakowi prawdziwemu dębu w leśnictwie w 2005 i 2006 roku. W kolejnych latach nie został zarejestrowany na potrzeby szkółek leśnych [Stocka 2008]. Dotychczas chitozan nie był badany jako stymulator wzrostu siewek drzew leśnych.

Celem badań było określenie wpływu Biochikolu 020 PC (preparatu zawierającego jako substancję czynną 2% chitozanu) aplikowanego doglebowo w szkółce oraz inokulacji podłoża hodowlanego biopreparatem z grzybem *Hebeloma crustuliniforme* na wzrost sadzonek sosny zwyczajnej w szkółce i na uprawie. W hipotezie roboczej założono, że oba zabiegi będą stymulowały wzrost sosny, przy czym wpływ aplikacji Biochikolu będzie istotny jedynie w pierwszym roku wzrostu, natomiast wpływ mykoryzacji utrzyma się również w uprawie.

Materiały i metody

Badania przeprowadzono w Leśnym Zakładzie Doświadczalnym Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Rogowie. Doświadczenie założono w namiocie foliowym, w układzie trzech bloków losowych. Obejmowało 8 wariantów wyszczególnionych ze względu na rodzaj podłoża hodowlanego (nieszczepione i szczepione *H. crustuliniforme*) oraz dawkę Biochikolu (pojedyncza, podwójna, potrójna). Porównanie stanowiły siewki sosny hodowane na obu rodzajach podłoża (szczepionym i nieszczepionym) nietraktowane Biochikolem.

Doświadczenie założono w kasetach V-120 (40 doniczek o pojemności 120 cm³). Substrat hodowlany stanowił niesterylizowany torf sfagnowy pochodzący z Estonii, charakteryzujący się niskim stopniem rozkładu (do 15%) i pH=4,5. Do torfu dodano perlit o najgrubszej frakcji (nr 3) w ilości 15% (v/v) i nawóz Osmocote typ Exact firmy Substrat, o okresie uwalniania składników 3-9 miesięcy, w ilości 3 kg/m³. Biopreparat z grzybnią wegetatywną *Hebeloma crustuliniforme*, wytworzony w laboratorium szkółki kontenerowej w Nadleśnictwie Rudy Raciborskie, dodano do podłoża w ilości objętościowej 6%. Nasiona I klasy jakości, pochodzące z Nadleśnictwa Maskulińskie, wysiano w końcu kwietnia.

W doświadczeniu użyto Biochikol 020 PC, zawierający jako substancję czynną 20 g chitozanu/l. Producentem preparatu jest firma Gumitex Poli-Farm Sp. z o.o. Biochikol stosowano doglebowo jako 2% wodny roztwór, w trzech dawkach: pojedyncza – 400 g chitozanu/ha, podwójna – 800 g chitozanu/ha i potrójna – 1200 g chitozanu/ha. Po przeliczeniu na jedną doniczkę dawka cieczy użytkowej wynosiła odpowiednio 0,143, 0,286 i 0,429 ml. Po skiełkowaniu siewek, począwszy od 23 maja, wykonano 5 zabiegów w odstępach tygodniowych. Biochikol aplikowano pipetą do każdej doniczki, bezpośrednio do gleby, w odległości około 1 cm od szyjki korzeniowej. W kolejnych zabiegach preparat podawano w czterech miejscach doniczki.

Po zakończeniu sezonu wegetacyjnego z każdego wariantu pobrano po 30 sadzonek. U każdej sadzonki zmierzono długość pędu i grubość w szyjce korzeniowej, a po wysuszeniu w temperaturze 105°C określono suchą masę części nadziemnej i systemu korzeniowego. Pozostałe sadzonki po przezimowaniu wysadzono na uprawie w leśnictwie Strzelna (oddział 147a) LZD Rogów, na siedlisku BMśw. Glebę przygotowano frezem leśnym w pasy. Sosnę wysadzono w więźbie 0,75×1,5 m. Uprawę założono w układzie czterech bloków losowych. Blok obejmował 8 wariantów doświadczenia, a każdy wariant reprezentowany był przez 15 sosen. Łącznie wysadzono 480 sadzonek. Po pierwszym roku wzrostu w uprawie pomierzono wysokość sadzonek i określono ich przeżywalność.

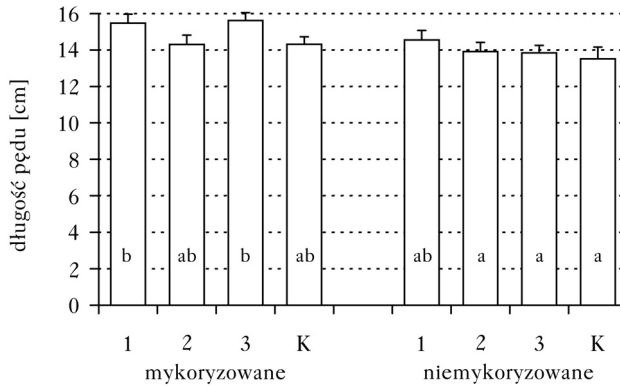
Przed przystąpieniem do analiz statystycznych sprawdzono zgodność rozkładu poszczególnych cech z rozkładem normalnym stosując test W Shapiro-Wilka oraz porównano jednorodność wariancji testem Levene'a. W przypadku cech biometrycznych rozkład testowanych parametrów nie różnił się istotnie od rozkładu normalnego, a wariancje porównywanych ze sobą wariantów badawczych były jednorodne, dlatego do testowania wartości średnich cech wykorzystano dwuczynnikową analizę wariancji oraz test *post-hoc* NIR. W przypadku analizy przeżywalności sadzonek z powodu niespełnienia założeń analizy parametrycznej, zastosowano testy nieparametryczne. W celu oceny wpływu mykoryzacji zastosowano test U Manna-Whitneya, natomiast do oceny wpływu aplikacji Biochikolu zastosowano test Kruskala-Wallisa. Dla wszystkich testów przyjęto poziom istotności $\alpha=0,05$.

Wyniki

Średnia długość pędu sadzonek sosny w szkółce wynosiła 14,4 cm, przy współczynniku zmienności 19,2%. Sadzonki mykoryzowane charakteryzowały się dłuższym pędem (14,93 cm) od nie-mykoryzowanych (13,96 cm). Najkrótsze pędy stwierdzono w wariancie kontrolnym bez aplikacji szczepionki mykoryzowej (13,5 cm), a najdłuższe w wariancie z potrójną dawką Biochikolu i szczepionką mykoryzową (15,6 cm) (ryc. 1). Zaobserwowano istotny wpływ mykoryzacji na długość pędu sadzonek sosnowych ($p=0,0062$). Aplikacja Biochikolu oraz współdziałanie badanych czynników (Biochikol i mykoryzacja) nie wpływały istotnie na badaną cechę (p odpowiednio 0,0938 i 0,5594).

Średnia grubość w szyjce korzeniowej sosny wynosiła 2,91 mm, a dla sadzonek inokulowanych i nieinokulowanych odpowiednio 3,02 mm i 2,80 mm. Sosny hodowane na podłożu bez szczepionki mykoryzowej po aplikacji Biochikolu były cieńsze w szyjce korzeniowej w porównaniu z sadzonkami mykoryzowanymi i traktowanymi Biochikolem (ryc. 2). Stwierdzono istotny wpływ na kształtowanie analizowanego parametru zabiegu mykoryzacji ($p=0,0004$) oraz współdziałania mykoryzacji i aplikacji Biochikolu ($p=0,0119$). Nie zaobserwowano istotnego wpływu samej aplikacji Biochikolu ($p=0,1667$).

Średnia sucha masa części nadziemnej sadzonek w szkółce wynosiła 0,983 g, przy współczynniku zmienności 24,6%. Wielkość tego parametru kształtowała się analogicznie do grubości w szyjce korzeniowej (ryc. 3). Sucha masa korzeni była cechą o stosunkowo najwyższej zmien-



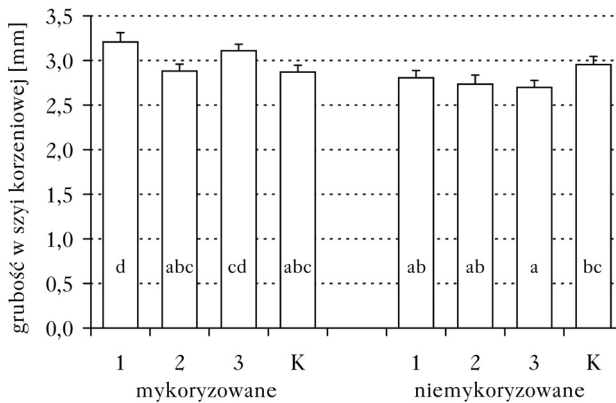
Ryc. 1.

Długość pędu (średnia i błąd standardowy) mykoryzowanych i niemykoryzowanych sadzonek sosny traktowanych Biochikolem

Shoot length (mean and standard error) of mycorrhized and non-mycorrhized pine seedlings treated with Biochikol

1, 2, 3 – pojedyncza, podwójna i potrójna dawka Biochikolu; K – kontrola; ta sama litera wskazuje brak istotnych statystycznie różnic między wariantami w teście NIR przy $p < 0,05$

1, 2, 3 – single, double and triple dose of Biochikol; K – control; the same letter indicates the lack of statistically significant differences between the variants in the NIR test at $p < 0,05$



Ryc. 2.

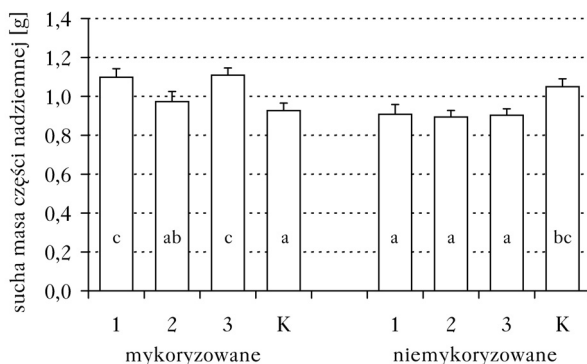
Grubość w szyi korzeniowej (średnia i błąd standardowy) mykoryzowanych i niemykoryzowanych sadzonek sosny traktowanych Biochikolem

Root collar diameter (mean and standard error) of mycorrhized and non-mycorrhized pine seedlings treated with Biochikol

Oznaczenia jak na rycinie 1; denotes as in figure 1

ności (współczynnik zmienności 28,2%). Jej wartość średnia wynosiła 0,411 g. Zabiegi wykonywane w szkółce nie miały istotnego wpływu na kształtowanie tego parametru (Biochikol $p=0,9072$, mykoryzacja $p=0,3418$, oba czynniki $p=0,1414$) (ryc. 4).

Przeżywalność sadzonek sosny w uprawie wynosiła średnio 90,4%. Sosny mykoryzowane charakteryzowały się nieco wyższą przeżywalnością (91,3%) w porównaniu z niemykoryzowanymi (89,6%). Różnica ta okazała się nieistotna statystycznie ($p=0,4287$). Najniższą przeżywalność wykazały mykoryzowane sosny z wariantu kontrolnego (83,3%), a najwyższą – mykoryzowane sadzonki traktowane podwójną dawką Biochikolu (96,7%) (ryc. 5). Również w tym przypadku nie wykazano istotnych różnic ($p=0,4376$).

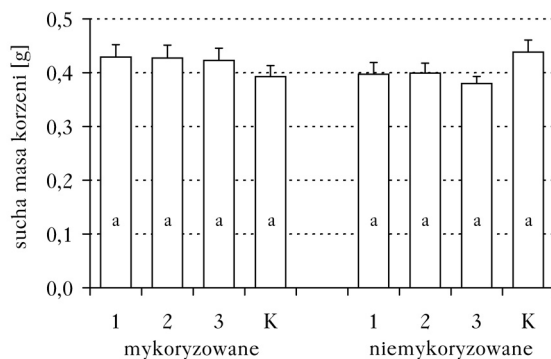


Ryc. 3.

Sucha masa części nadziemnej (średnia i błąd standardowy) mykoryzowanych i niemykoryzowanych sadzonek sosny traktowanych Biochikolem

Aboveground dry biomass (mean and standard error) of mycorrhized and non-mycorrhized pine seedlings treated with Biochikol

Oznaczenia jak na rycinie 1; denotes as in figure 1



Ryc. 4.

Sucha masa korzeni (średnia i błąd standardowy) mykoryzowanych i niemykoryzowanych sadzonek sosny traktowanych Biochikolem

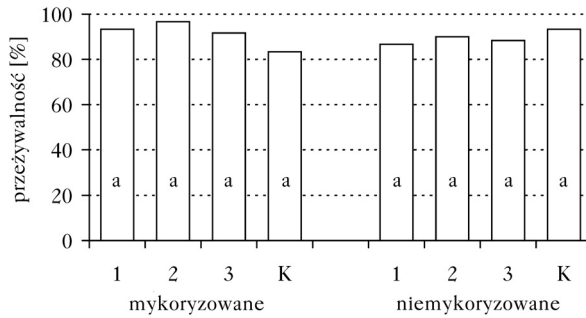
Roots dry biomass (mean and standard error) of mycorrhized and non-mycorrhized pine seedlings treated with Biochikol

Oznaczenia jak na rycinie 1; denotes as in figure 1

Po roku wzrostu w uprawie średnia wysokość sosny wynosiła 29,2 cm, przy współczynniku zmienności 21,7%. Sadzonki mykoryzowane były wyższe od niemykoryzowanych (odpowiednio 29,9 i 28,4 cm). Najwyższe w uprawie były sadzonki mykoryzowane traktowane potrójną dawką Biochikolu (31,5 cm), a najniższe – niemykoryzowane sosny po aplikacji pojedynczej dawki preparatu (27,3 cm) (ryc. 6). Nie stwierdzono wpływu na analizowaną cechę Biochikolu ($p=0,1588$) i współdziałania tego preparatu i mykoryzacji ($p=0,1207$). Istotny był natomiast wpływ samej mykoryzacji ($p=0,0158$).

Dyskusja

Zarówno inokulacja podłoża szczepionką zawierającą grzybnię *H. crustuliniforme*, jak i dogłębowa aplikacja Biochikolu stymulowały wzrost sadzonek sosny zwyczajnej. Wpływ mykoryzacji był silniejszy i zaznaczył się zarówno w szkółce, jak i w pierwszym roku hodowli w uprawie.

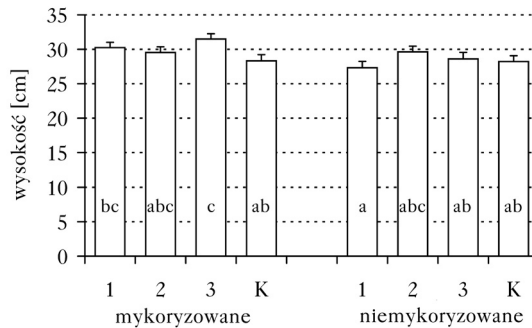


Ryc. 5.

Przeżywalność [%] mykoryzowanych i niemykoryzowanych sadzonek sosny po roku wzrostu w uprawie
Survival rate [%] for mycorrhized and non-mycorrhized pine seedlings in the first year of growth in the plantation

Ta sama litera wskazuje brak istotnych statystycznie różnic między wariantami w teście Kruskala-Wallis przy $p < 0.05$; pozostałe oznaczenia jak na rycinie 1

The same letter indicates lack of statistically significant differences between the variants in the Kruskal-Wallis test at $p < 0.05$; other denotes as in figure 1



Ryc. 6.

Wysokość (średnia i błąd standardowy) mykoryzowanych i niemykoryzowanych sadzonek sosny po roku wzrostu w uprawie

Tree height (mean and standard error) of mycorrhized and non-mycorrhized pine seedlings in the first year of growth in the plantation

Oznaczenia jak na rycinie 1; denotes as in figure 1

Stymulacja wzrostu sosny w wyniku aplikacji Biochikolu była niewielka, dotyczyła tylko niektórych z analizowanych parametrów biometrycznych i stwierdzono ją wyłącznie u sadzonek w szkółce. Uzyskane przez nas wyniki nie odbiegają od prezentowanych przez innych autorów [Ohta i in 2004; Szabla 2007a, b].

Przeżywalność sadzonek w uprawie była stosunkowo wysoka i nie zależała od analizowanych zabiegów wykonanych w szkółce. W innych doświadczeniach z sosną mykoryzowaną grzybem *H. crustuliniforme*, prowadzonych w LZD Rogów, przeżywalność sadzonek po roku wzrostu w uprawie wynosiła około 97% [Aleksandrowicz-Trzcńska 2004; Hamera 2009]. Prawdopodobnie na uzyskany wynik największy, korzystny wpływ miał fakt hodowli sadzonek z zakrytym systemem korzeniowym. Natomiast ograniczająco na przeżywalność mógł wpłynąć sposób przygotowania gleby frezem w pasy. Wsadzenie sosny na siedlisku BMśw powodowało dość szybko zachwaszczanie się uprawy przy takim przygotowaniu gleby.

Wpływ sterowanej mykoryzacji na wzrost drzew leśnych, w szkółce i na uprawie, może być zróżnicowany, co wskazano już we wstępie pracy. Jest to zależne od gatunku drzewa, gatunku

i szczepu grzyba, jego udziału na korzeniach i tolerancji w stosunku do warunków w miejscu przesadzenia [Browning, Whitney 1992, 1993]. Kluczowe znaczenie ma gatunek i szczep grzyba zawarty w szczepionce mykoryzowej. Biopreparat oparty na grzybni vegetatywnej *H. crustuliniforme* w wielu dotychczas przeprowadzonych badaniach, na różnych gatunkach drzew leśnych, korzystnie wpływał na wzrost, zarówno na etapie produkcji w szkółce, jak i po wysadzeniu na uprawie [Szabla 2007a, b]. Chociaż są też badania wskazujące na inhibicję wzrostu sosny mykoryzowanej grzybem *H. crustuliniforme* [Aleksandrowicz-Trzcńska 2004; Hamera 2009].

Efekt działania chitozanu utrzymuje się przez długi czas po aplikacji, w przeciwieństwie do innych środków biologicznych lub chemicznych. Niektórzy autorzy wskazują nawet na okres dziesięciu tygodni po aplikacji [Wojdyła, Orlikowski 1997]. Stąd można wnioskować, że sosny w naszym doświadczeniu rosły pod wpływem działania środka praktycznie przez cały sezon wegetacyjny. Mimo to stymulacja wzrostu była niewielka i dotyczyła tylko grubości w szyjce korzeniowej i suchej masy części nadziemnej. Pewnym zaskoczeniem był brak wpływu Biochoku na wzrost korzeni. Autorzy innych badań wykazali silną stymulację wzrostu zarówno pędów, jak i korzeni różnych gatunków roślin ozdobnych w wyniku dogłębowej aplikacji chitozanu [Ohta i in. 1999, 2004]. Również w badaniach Cho i in. [2008] zaprawianie nasion słonecznika chitozaniem stymulowało wzrost roślin. Chociaż większość badań wskazuje na korzystny wpływ chitozanu na wzrost roślin, są również takie, w których takiego działania nie wykazano. W badaniach Sulewskiej i Koziały [2006] zaprawianie nasion kukurydzy Biochikolem nie miało wpływu na długość korzeni oraz świeżą i suchą masę części nadziemnej i korzeni. Bezpośrednie porównanie wyników uzyskanych przez innych autorów z naszymi jest trudne, ponieważ badania były prowadzone na roślinach bardzo odległych od siebie pod względem systematyki, biologii czy długości cyklu życiowego. Różnice dotyczą również sposobu aplikacji środka i jego stężenia. Cho i in. [2008] pokazali zróżnicowany wpływ chitozanu w zależności od masy cząsteczkowej substancji, w której był rozpuszczony i stężenia.

O ile mechanizm działania chitozanu jako stymulatora odporności jest obecnie dość dobrze poznany [Pospieszny i in. 1991; Sathiyabama, Balasubramanian 1998; Zuppini i in. 2003], to dotychczas nie znamy mechanizmu, który powoduje stymulację wzrostu roślin w wyniku traktowania chitozaniem [Cho i in. 2008]. Można jedynie przypuszczać, że może on stymulować wzrost roślin pośrednio w wyniku zmian mikrobiologicznych w glebie powodowanych aplikacją środka. W ryzosferze roślin motylkowych traktowanych Biochikolem (zaprawianie nasion i oprysk) stwierdzono większą liczbę bakterii z rodzaju *Bacillus* i *Pseudomonas* oraz grzybów z rodzaju *Gliocladium* i *Trichoderma* [Patkowska i in. 2006]. Oba wymienione rodzaje obejmują bakterie należące do wspomagających wzrost roślin (ang. plant growth promoting rhizobacteria, PGPR), które wprowadzone do gleby indukują odporność roślin na choroby i stymulują ich wzrost [Ramamoorthy i in. 2001]. Podobnie pewne izobaty grzybów z rodzaju *Gliocladium* i *Trichoderma* wykazują właściwości stymulowania wzrostu roślin (ang. plant growth promoting fungi, PGPF). Korzystnie wpływają one szczególnie na wzrost korzeni i w warunkach stresu oraz indukują odporność roślin na choroby i stesy abiotyczne [Harman 2011].

Stymulacja wzrostu roślin traktowanych Biochikolem może też być wynikiem bezpośredniego pobrania chitozanu przez korzenie i wykorzystania w procesach metabolicznych przez roślinę jako dodatkowe źródło substancji pokarmowych [Ohta i in. 2004].

Zastosowane w doświadczeniu dawki Biochoku różniły się ilością cieczy użytkowej i w związku z tym ilością dostarczonego do gleby chitozanu. Różnice w wielkości parametrów biometrycznych sosen traktowanych poszczególnymi dawkami tylko w niektórych przypadkach były istotne statystycznie. Można wskazać tendencje dotyczące analizowanych cech wzrostowych.

Sosny niemykoryzowane traktowane Biochikolem, niezależnie od wielkości jego dawki, były mniejsze od mykoryzowanych i traktowanych Biochikolem, a w przypadku grubości w szyjce korzeniowej i suchej masy pędu również od sadzonek z obu wariantów kontrolnych. Najlepszymi parametrami wzrostowymi charakteryzowały się sosny z wariantu ze szczepionką mykoryzową i najwyższą dawką Biochikolu.

Korzyści z hodowli w szkółce i wprowadzania na uprawy mykoryzowanego materiału sadzeniowego, szczególnie przy odnowieniach i zalesieniach gruntów trudnych, zostały udokumentowane zarówno w naszych badaniach, jak i w wielu innych [Garbaye, Churin 1997; Szabla 2007b]. Wyniki naszego doświadczenia, jak również badania innych autorów [Duda i in. 2003] pokazały, że traktowanie siewek i sadzonek w szkółce chitozanem prowadzi do uzyskania wysokiej jakości materiału sadzeniowego. Korzyści ze stosowania tego związku w szkółce można rozpatrywać w wielu aspektach. Jako środek ochrony roślin aktywuje geny odpowiedzialne za reakcje obronne rośliny [Jayaraj 2009], co czyni roślinę odporną na szereg chorób powodowanych przez patogeny z różnych grup systematycznych. Niezależnie od tego wykazuje aktywność antywirusową, antybakteryjną i antygrzybową [Pospieszny i in. 1991; Li i in. 2011; Hernández-Lauzardo i in. 2011]. Chitozan jako stymulator wzrostu i rozwoju roślin pozwala na uzyskanie sadzonek o odpowiednich parametrach biometrycznych. Może okazać się to przydatne szczególnie w produkcji materiału sadzeniowego gatunków wolno rosnących. Dodatkowo chitozan jest środkiem biologicznym, nietoksycznym, w pełni biodegradowalnym [Raafat, Sahl 2009].

Analizowane w naszym doświadczeniu zabiegi są przyjazne dla środowiska i pozwalają na wyhodowanie wysokiej jakości sadzonek. O ile jednak korzystny wpływ mykoryzacji sadzonek jest już obecnie dobrze udokumentowany w literaturze naukowej, to badania chitozanu zarówno jako środka ochrony roślin, jak i stymulatora wzrostu, szczególnie w aspekcie hodowli drzew leśnych, są nieliczne i powinny być kontynuowane.

Wnioski

- ✦ Zarówno mykoryzacja podłoża grzybem *H. crustuliniforme*, jak i dogłębowa aplikacja Biochikolu 020 PC korzystnie wpływają na wzrost sadzonek sosny zwyczajnej.
- ✦ Sadzonki mykoryzowane, wyprodukowane z zakrytym systemem korzeniowym, charakteryzowały się lepszym wzrostem w porównaniu z niemykoryzowanymi, zarówno na etapie hodowli w szkółce, jak i w pierwszym roku wzrostu na uprawie.
- ✦ Stymulacja wzrostu sosny w wyniku dogłębowej aplikacji Biochikolu, niezależnie od zastosowanej dawki, była słabsza w porównaniu z zabiegiem mykoryzacji i wystąpiła tylko na etapie produkcji w szkółce.

Literatura

- Aleksandrowicz-Trzcńska M. 2004. Kolonizacja mykoryzowa i wzrost sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w uprawie założonej z sadzonek w różnym stopniu zmykoryzowanych. *Acta Scientiarum Polonorum Silvarum Colendarum Ratio et Industria Lignaria* 3 (1): 5-15.
- Aleksandrowicz-Trzcńska M., Buraczyk W. 2007-2008. The growth and mycorrhizal status of Scots pine seedlings planted on a outer dumping ground of the Lignite Mine in Bełchatów using different methods of seedling production. *Folia Forestalia Polonica Series A – Forestry* 49-50: 5-14.
- Browning M. H. R., Whitney R. D. 1992. Field performance of black spruce and jack pine inoculated with selected species of ectomycorrhizal fungi. *Can. J. For. Res.* 22: 1974-1982.
- Browning M. H. R., Whitney R. D. 1993. Infection of containerized jack pine and black spruce by *Laccaria* species and *Thelephora terrestris* and seedling survival and growth after outplanting. *Can. J. For. Res.* 23: 330-333.
- Cho M. H., No H. K., Prinyawiwatkul W. 2008. Chitosan treatments affect growth and selected quality of sunflower sprouts. *Journal of Food Science* 73 (1): 70-77.

- Domínguez Núñez J. A., Selva Serrano J., Rodríguez Barreal J. A., Saiz de Omeñaca González J. A. 2006. The influence of mycorrhization with *Tuber malanosporum* in the afforestation of a Mediterranean site with *Quercus ilex* and *Quercus faginea*. For. Ecol. Manage. 231: 226-233.
- Duda B., Oszako T., Piwnicki J. 2003. Possibilities of chitosan use in forestry. Bulletin of the Polish Academy of Sciences, Biological Sciences 51 (3): 213-220.
- Garbaye J., Churin J.-L. 1997. Growth stimulation of young oak plantations inoculated with the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* with special reference to summer drought. For. Ecol. Manage. 98: 221-228.
- Garbaye J., Delwaulle J. C., Diangana D. 1988. Growth response of eucalypts in the Congo to ectomycorrhizal inoculation. For. Ecol. Manage. 24: 151-157.
- Hamera A. 2009. Wpływ preparatów biologicznych stosowanych w ochronie siewek przed pasożytniczą zgorzelą na wzrost i kolonizację mykoryzową sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.). Praca doktorska. Wydział Leśny SGGW w Warszawie.
- Harman G. E. 2011. Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. New Phytol. 189: 647-649.
- Hernández-Lauzardo A. N., Vega-Pérez J., Velázquez-Del Valle M. G., Sánchez N. S., Peña A., Guerra-Sánchez G. 2011. Changes in the functionality of plasma membrane of *Rhizopus stolonifer* by addition of chitosan. J Phytopathol 159: 563-568.
- Högberg M. N., Högberg P. 2002. Extramatrical ectomycorrhizal mycelium contributes one-third of microbial biomass and produces, together with associated root, half the dissolved organic carbon in a forest soil. New Phytol. 154: 791-795.
- Högberg P., Högberg M. N., Göttlicher S. G., Betson N. R., Keel S. G., Metcalfe D. B., Campbell C., Schindlbacher A., Hurry V., Lundmark T., Linder S., Näsholm T. 2008. High temporal resolution tracing of photosynthate carbon from the tree canopy to forest soil microorganisms. New Phytol. 177: 220-228.
- Jayaraj J., Rahman M., Wan A., Punja Z. K. 2009. Enhanced resistance to foliar fungal pathogens in carrot by application of elicitors. Ann. Appl. Biol. 155: 71-80.
- Li B., Liu B., Shan C., Ibrahim M., Lou Y., Wang Y., Xie G., Li H., Sun G. 2013. Antibacterial activity of two chitosan solutions and their effect on rice bacterial leaf blight and leaf streak. Pest. Manag. Sci. 69: 312-320.
- Ohta K., Morishita S., Suda K., Kobayashi N., Hosoki T. 2004. Effects of chitosan soil mixture treatment in the seedling stage on the growth and Flowering of several ornamental plants. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 73 (1): 66-68.
- Ohta K., Taniguchi A., Konishi N., Hosoki T. 1999. Chitosan treatment affects plant growth and flower quality in *Eustoma grandiflorum*. Hort. Science. 34 (2): 233-234.
- Patkowska E., Pięta D., Pastucha A. 2006. The effect of Biochikol 020 PC on microorganism communities in the rhizosphere of *Fabaceae* plants. Polish Chitin Society, Monograph 11: 171-178.
- Placek A., Dobrowolska A., Wraga K., Zawadzka A., Żurawik P. 2009. Wykorzystanie chitozanu w uprawie, przechowalnicwie i ochronie roślin ogrodniczych. Postępy Nauk Rolniczych 3-4: 101-109.
- Pospieszny H., Chirkov S., Atabekov J. 1991. Induction of antiviral resistance in plants by chitosan. Plant Science 79: 63-68.
- Raafat D., Sahl H.-G. 2009. Chitosan and its antimicrobial potential – a critical literature survey. Microbial Biotechnology 2 (2): 186-201.
- Rabea E. I., Badway M. E.-T., Stevens C. V., Smaghe G., Steurbaut W. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. Biomacromolecules 4 (6): 1457-1465.
- Ramamoorthy V., Viswanathan R., Raguchander T., Prakasam V., Samiyappan R. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. Crop Protection 20: 1-11.
- Sathiyabama M., Balasubramanian R. 1998. Chitosan induce resistance components in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. Crop Protection 17 (4): 307-313.
- Stocka T. 2008. Biologiczne metody ochrony przed chorobami grzybowymi w szkółkach leśnych. Postępy Techniki w Leśnictwie 104: 28-38.
- Sulewska H., Koziara W. 2006. Ocena wartości siewnej oraz potencjału plonowania trzech frakcji nasion kukurydzy traktowanych preparatem Biochikol 020 PC. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering 51 (2): 178-182.
- Szabla K. 2007a. Wpływ rodzaju substratu hodowlanego i nawożenia mineralnego na wzrost i rozwój oraz skuteczność zabiegu sterowanej mykoryzacji grzybem *Hebeloma crustuliniforme* i *Laccaria bicolor*. W: Kowalski S. [red.]. Ekomykoryzy. Nowe biotechnologie w polskim szkółkarstwie leśnym. CILP. 128-145.
- Szabla K. 2007b. Różnicowanie się w uprawach leśnych parametrów wzrostowych, żywotności i biomasy sadzonek drzew leśnych, poddanych i niepoddanych w szkółce kontenerowej zabiegowi sterowanej mykoryzacji grzybem *Hebeloma crustuliniforme* i *Laccaria bicolor*. W: Kowalski S. [red.]. Ekomykoryzy. Nowe biotechnologie w polskim szkółkarstwie leśnym. CILP. 289-336.
- Villeneuve N., Le Taon F., Bouchard D. 1991. Survival of inoculated *Laccaria bicolor* in competition with native ectomycorrhizal fungi and effects on the growth of outplanted Douglas – fir seedlings. Plant Soil 135: 95-107.

Wojdyła A. T., Orlikowski L. B. 1997. Chitozan w zwalczaniu grzybów doglebowych i nalistnych. Postępy w Ochronie Roślin 37: 300-305.

Zuppini A., Baldan B., Millioni R., Favaron F., Navazio L., Mariani P. 2003. Chitozan induces Ca²⁺-mediated programmed cell death in soybean cells. New Phytol. 161: 557-568.

SUMMARY

Effect of mycorrhization and chitosan on the growth of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in nursery and plantation

The aim of the study was to assess the effect of inoculation with fungus *Hebeloma crustuliniforme* and soil application of the preparation Biochikol 020 PC at three doses (400 g, 800 g and 1200 g of chitosan per hectare) on the growth of Scots pine in the nursery and in the first year of growth in the plantation. In the nursery, pine trees were grown in a foil greenhouse in V-120 pot trays, on the peat-perlite substrate inoculated and not inoculated with the *H. crustuliniforme* mycelium. Biochikol was applied as a 2 percent solution, five times during the growing season. The plantation was established in the Rogów Forest District in the fresh mixed coniferous forest. The growth of seedlings in the nursery was assessed on the basis of the following characteristics: root collar diameter, shoot length, dry weight of shoots and roots. After the first year of growth, the height of seedlings in the plantation was measured and their survival was determined.

The studies showed that both the inoculation of the substrate with the *H. crustuliniforme* mycelium and application of Biochikol to the soil stimulated pine seedlings growth. The effect of mycorrhization was stronger and occurred both in the nursery and after the first year of growth in the plantation. The application of Biochikol had little effect on pine growth; it affected only some of the analysed biometric parameters of seedlings exclusively in the nursery. The used doses of Biochikol did not cause significant differences in the size of biometric parameters of pine seedlings.