

Niepolarny transport auksyny poprzez floem razem z cukrami, aminokwasami, produktami metabolizmu zachodzi u roślin okrytozalążkowych (GOLDSMITH i in. 1974; MORRIS i KADIR 1972) z prędkością 10-24 cm/godz. W systemie niepolarnym substancje mogą przemieszczać się w górę, w dół lub w obu kierunkach w zależności od stosunków wodnych i umiejscowienia tkanki docelowej.

U sosny transport poziomy auksyny od kambium do strefy dojrzewającego drewna zależy od jej ilości. W miarę wzrostu ogólnego poziomu auksyny zwiększa się jej procent w strefie drewna, natomiast gdy poziom auksyny jest niski, przeważająca jej część znajduje się w kambium i floemie (EGERSZDORFF 1982).

#### 5.4.7.2. TRANSPORT CYTOKININ I KWASU ABSCYZYNOWEGO

Głównym źródłem cytokinin są korzenie (SKENE 1975), ale biosyntezę cytokinin stwierdzano także w liściach i pędach. Aktywność cytokinin u sosny zwyczajnej była wykrywana w korzeniach, pędach, igłach, pąkach, korce i kambium pnia oraz w jednorocznych szyszkach (ROGOZIŃSKA 1967; ROGOZIŃSKA i LEGOCKI 1969), przy czym najwyższą akty-

wność stwierdzano we wrześniu, a najniższą w maju.

Stwierdzono, że u roślin okrytozalążkowych cytokiny z korzeni są dostarczane w sposób ciągły do pędów z prądem wody w ksylemie (VAN STADEN i DAVEY 1979). Cytokiny u okrytozalążkowych są obecne również w soku floemu (HALL i BAKER 1972; VONK 1979; BAKER i ALLEN 1992), co wskazuje na możliwość recyrkulacji cytokinin w roślinie. Sposób wymiany cytokinin między sokiem ksylemu i sokiem floemu nie jest wyjaśniony, ale bezpośrednia wymiana jest mało prawdopodobna (BAKER i ALLEN 1992). W literaturze nie ma na ten temat doniesień dotyczących sosny.

Obecność kwasu abscyzynowego (ABA) była wykrywana u sosny w pąkach (ALDEN i ELIASSON 1970) i kambium (JENKINS i SHEPHERD 1972; 1974; WODZICKI i WODZICKI 1980; SAVIDGE i WAREING 1984). WODZICKI i WODZICKI (1980) stwierdzili akumulację ABA w rejonie kambium *Pinus sylvestris* jesienią. ABA może być syntetyzowany w liściach i stamtąd transportowany do pnia (WALTON 1980), ale jest też możliwe, że samo kambium syntetyzuje ABA. Wysoki poziom ABA znaleziono w kambium osobników *Pinus contorta* pozbawionych igieł, a także poniżej obrączki na pniu, co wykluczało transport tej substancji z igieł (SAVIDGE i WAREING 1984).

## 5.5. MIKORYZA\*

Mikoryza jest symbiotyczną zależnością powstającą pomiędzy niepatogenicznymi grzybami a żywymi komórkami korzeni. W przyrodzie mikoryza na korzeniach jest regułą, brak mikoryz wyjątkiem. Rodzina sosnowatych (*Pinaceae*) stanowi klasyczny przykład jednostki systematycznej o ważnym znaczeniu ekonomicznym, której przedstawiciele dla prawidłowego rozwoju wymagają obecności na korzeniach grzybów ektomikoryzowych (HACSKAYLO 1972; MARKS i KOZLOWSKI 1973; SCHENCK 1982; HARLEY i SMITH 1983a; 1983b). Wykazano, że sosna zwyczajna w środowisku leśnym odznacza się stałym

współzyciem mikoryzowym, warunkującym prawidłowy rozwój drzew tego gatunku (PACHLEWSKI 1967). Można ją więc zaliczyć do drzew obligatoryjnie mikoryzowych. W warunkach naturalnych, kiedy brak jest grzybów mikoryzowych, sosna wykazuje zahamowanie wzrostu, karłowacieje, a nawet ginie (MEYER 1973).

Pierwsze obserwacje obecności grzybni na korzeniach drzew iglastych wykonał ROBERT HARTIG w połowie XIX wieku (TRAPPE i BERCH 1985). HARTIG zaobserwował siateczkę grzybniową pomiędzy komórkami kory pierwotnej korzenia sosny. W 1885 roku

\*Opracowała MARIA RUDAWSKA

FRANK nadał nazwę **mikoryza** (z greckiego *mykes*–grzyb, *rhiza*–korzeń) kompleksowi grzyb-korzeń obserwowanemu u wielu iglastych, szczególnie w rodzinie sosnowatych i wyszczególnił (1887) po raz pierwszy dwa główne typy mikoryzy: zewnętrzną – ektotroficzną i wewnętrzną – endotroficzną.

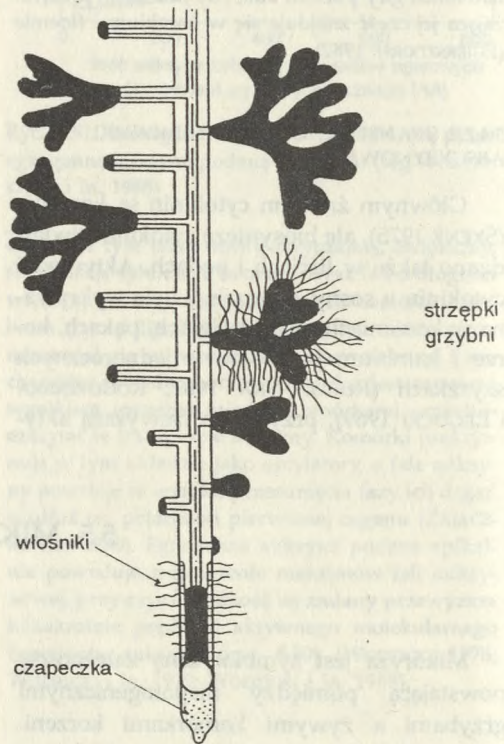
Mikoryzy na korzeniach sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*) opisał szczegółowo MELIN (1923), który wyróżnił ponadto szereg form w obrębie mikoryzy ektotroficznej.

### 5.5.1. SYSTEM KORZENIOWY SOSNY

System korzeniowy szpilkowych dzieli się na korzenie długie o potencjalnie nieograniczonym wzroście oraz korzenie krótkie o ograniczonym wzroście na długość (HARLEY 1959; HARLEY i SMITH 1983a).

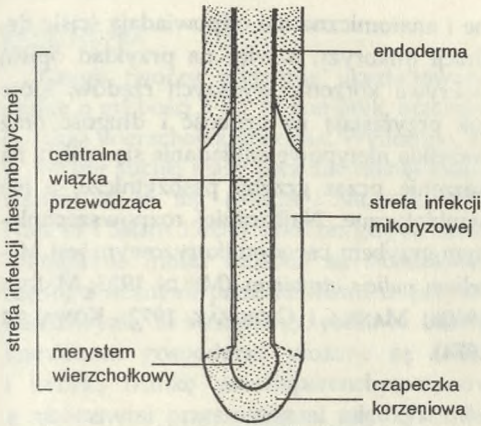
Wśród korzeni długich wyróżnia się korzenie pionierskie, z których rozwijają się główne odgałęzienia systemu korzeniowego oraz korzenie macierzyste, na których osadzone są gałęzie korzeni krótkich, żywiących. Korzenie długie charakteryzują się aktywnym kambium, natomiast korzenie krótkie zawierają więcej tkanki miękkiej i mają ograniczony przyrost wtórny. Ich boczne rozwidlenia pozostają również krótkie, ale rozgałęziają się dalej, tak że powstają charakterystyczne gałęzie krótkich korzeni (HEJNOWICZ 1973). Te właśnie odgałęzienia ulegają najczęściej przekształceniu w mikoryzę, podczas gdy długie korzenie nie wchodzi w symbiozę mikoryzową lub jest to kontakt ograniczony tylko do niewielkich odcinków (HARLEY i SMITH 1983a). Struktura krótkich korzeni u rodzaju *Pinus* odbiega nieco od ogólnie przyjętego schematu dla szpilkowych. Korzenie te zdecydowanie różnią się od głównej osi, od której się odgałęziają, ponieważ mają uproszczoną budowę tkanki przewodzącej, która występuje jako pojedyncza, centralnie położona wiązka, zwana walcem osiowym. Ponadto mają zredukowany wierzchołek oraz czapeczkę i wcześniej obumierają, o ile nie wejdą w symbiozę mikory-

zową. Natomiast w przypadku kontaktu z grzybem mikoryzowym, krótkie korzenie sosny kontynuują swój wzrost, bardzo często rozgałęziają się dichotomicznie (widełkowato) i tworzą system typowych korzeni mikoryzowych (ryc. 5.31). Dichotomia korzeni mikoryzowych jest charakterystyczną cechą sosny (tabl. 5.1B) i rzadko lub wcale nie występuje u innych gatunków (HARLEY i SMITH 1983a).



Ryc. 5.31. Schemat rozwoju mikoryzy na korzeniu sosny z charakterystycznymi rozwidleniami (dichotomie); czarnym kolorem oznaczono części opanowane przez grzyba (wg HATCH 1937, z HARLEYA 1959)

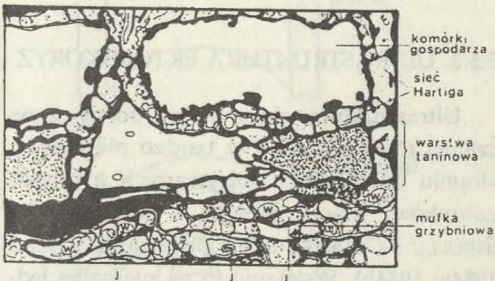
Symbioza mikoryzowa nie obejmuje tkanek merystematycznych oraz samego wierzchołka korzenia. Można wyznaczyć na krótkich korzeniach tzw. strefę symbiozy mikoryzowej (ryc. 5.32), która leży powyżej wierzchołka wzrostu i sięga do miejsca gdzie rozpoczyna się przyrost wtórny. Na korzeniach



Ryc. 5.32. Schemat przedstawiający strefę symbiozy mikoryzowej oraz rejon infekcji niesymbiotycznej (zakropkowany) na korzeniu sosny (wg MARKS i FOSTER 1973)

mikoryzowych nie występują włósniki, których funkcję przejmują właśnie mikoryza.

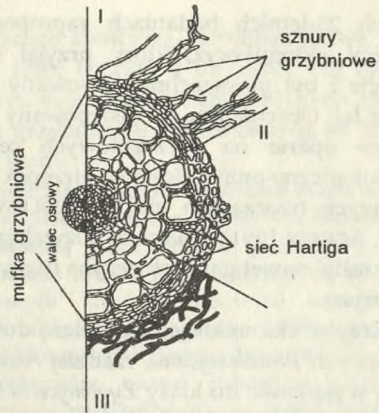
Do podstawowych przejawów symbiozy mikoryzowej u sosny należy pojawienie się wokół korzeni mufki grzybniowej oraz obecność strzępek grzybni, tzw. sieci HARTIGA, w przestworach międzykomórkowych (ryc. 5.33 i 5.34).



Ryc. 5.33. Fragment przekroju poprzecznego przez mikoryzowy korzeń *Pinus sylvestris* z grzybem *Suillus variegatus*, obejmujący mufkę grzybniową, warstwę taninową oraz zewnętrzny region sieci HARTIGA (powiększenie 3680, wg WARMBRODT i ESCHRICH 1985a): W – wakuola, J – jądro

## 5.5.2. PODZIAŁ MIKORYZ

Najczęściej dotąd używany podział mikoryz, znajdujący w pełni zastosowanie dla *P. sylvestris*, ma za podstawę charakter kontaktu grzybni z komórkami korzenia. Uwzględ-



Ryc. 5.34. Schemat przekroju poprzecznego ektomikoryzy sosny, uwzględniający różny charakter mufki grzybniowej wg klasyfikacji DOMINIKA: I – mufka podtypu C, komórki grzyba silnie splecione z odchodzącymi od mufki sznurami grzybniowymi, II – mufka podtypu F zbudowana z pseudoparenchymy grzybowej o powierzchni gładkiej, III – mufka podtypu K z zaznaczonymi różnymi kolorami dwoma rodzajami grzybni (wg DOMINIKA 1956)

nia on zmianę terminologii tzw. mikoryzy ektotroficznej na ektomikoryzę (PEYRONELL i in. 1969).

### 5.5.2.1. EKTOMIKORYZA

Ektomikoryza to najbardziej rozpowszechniona symbioza na korzeniach sosny zwyczajnej. W ektomikoryzie grzyb tworzy mufkę grzybniową, pokrywającą wolnorosnącą, niezsuberyzowaną część korzenia oraz penetruje pomiędzy komórkami kory pierwotnej, tworząc sieć HARTIGA, najbardziej charakterystyczny rys ektomikoryzy. Jest to region, gdzie roślina i grzyb wchodzi w ścisły kontakt i gdzie ma miejsce wymiana metabolitów obu symbiontów. W ektomikoryzie grzybni nigdy nie wnika do wnętrza komórek, jak również nie przekracza granicy endodermis i walca osiowego oraz nie wchodzi pomiędzy komórki wierzchołka korzeniowego (MARKS i FOSTER 1973). Istnieje kilka sposobów klasyfikacji ektomikoryz w zależności od cech morfologicznych, anatomicznych lub gatunku symbionta (MELIN 1927; BJÖRKMANN 1940; TRAPPE 1967). Polski mikolog TADEUSZ DOMINIK (1956) opierając się na

swych 25-letnich badaniach zaproponował podział ektomikoryz, który przyjął się w świecie i był powszechnie stosowany przez wiele lat. Obecnie jest on zastępowany przez klucze oparte na szczegółowych cechach morfologiczno-anatomicznych strzępek grzybnionych tworzących mufkę (INGLEBY i in. 1990; AGERER 1991). Klucze te pozwalają częściowo określić nawet gatunek grzyba tworzącego mikoryzę.

Grzyby ektomikoryzowe należą do klasy glebowych *Basidiomycetes*, rzadziej *Ascomycetes*, a wyjątkowo do klasy *Zygomycetes* (*Endogone* sp.) (DEXHEIMER i PARGNEY 1991).

#### 5.5.2.2. EKTENDOMIKORYZA

Opisaną po raz pierwszy przez MELINA (1922; 1923), a następnie BJÖRKMANA (1942; 1949), ROBERTSONA (1954) i MIKOLĘ (1965; 1988) ektendomikoryzę uważano za formę przejściową pomiędzy mikoryzą zewnętrzną i wewnętrzną. Obecnie wydaje się, że stanowi odrębną jakość w symbiozie mikoryzowej sosny, tworzoną przez kilka gatunków grzybów o bardzo specyficznych właściwościach ekologicznych oraz cechach fizjologicznych, decydujących o charakterze ektendomikoryzowym tej symbiozy. Ektendomikoryza charakteryzuje się zwykle niepozorną mufką, grubą siecią HARTIGA i obecnością grzybni wewnątrz komórek korzenia. Ten typ mikoryzy budzi obecnie coraz większe zainteresowanie badaczy. Okazuje się, że jest niezwykle ważnym typem symbiozy w szkółkach leśnych i młodych drzewostanach sosny zwyczajnej, szczególnie na glebach o wysokiej zawartości azotu (szerzej o tym typie mikoryzy w rozdziale 5.5.10).

#### 5.5.2.3. PSEUDOMIKORYZA

Terminu tego użył po raz pierwszy MELIN (1917) dla sytuacji, w której grzyb wykazywał penetrację wnętrza komórek korzenia. Korzenie tracą wówczas włosniki, ale na ogół pozbawione są typowej mufki grzybnionej. DOMINIK (1956) uważa, że pseudomikoryza dotyczy takiego współżycia pomiędzy drzewami i grzybami, którego cechy morfologicz-

ne i anatomiczne nie odpowiadają ściśle definicji mikoryzy, a więc na przykład opilśń pokrywa korzenie wyższych rzędów, które już przyrastają na grubość i długość oraz wszelkie nietypowe nakładanie się opilśni na korzenie przez grzyby pasożytnicze, a nie symbiotyczne. Najbardziej rozpowszechnionym grzybem pseudomikoryzowym jest *Mycelium radialis atrovirens* (MELIN 1923; MAŃKA 1960a; MAŃKA i GIERCZAK 1972; KOWALSKI 1974).

#### 5.5.2.4. MIKORYZA PERITROFICZNA

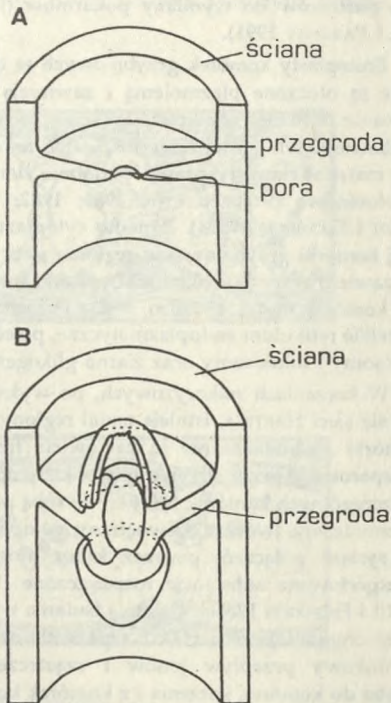
Mikoryza peritroficzna jest luźnym związkiem pomiędzy korzeniami i niektórymi grzybami (JAHN 1934). Opilśń grzybowa w tym przypadku nie łączy się anatomicznie z korą korzeni. Grzyb żyje na powierzchni korzeni albo w ryzosferze bez penetracji samego korzenia. Być może, że mikoryza peritroficzna jest najwcześniejszym stadium wzajemnego dostosowywania się symbiontów i w odpowiednich warunkach przechodzi w mikoryzę ektotroficzną (DOMINIK 1956).

#### 5.5.3. ULTRASTRUKTURA EKTOMIKORYZ

Ultrastruktura ektomikoryz sosny zwyczajnej różni się tylko w bardzo niewielkim stopniu od mikoryz opisywanych u innych gatunków sosny (FOSTER i MARKS 1966; STRULLU i GOURRET 1973; DUDDRIDGE i READ 1984a; 1984b). Wskazuje to na niemalże jednorodny obraz ultrastruktury ektomikoryz w całej rodzinie *Pinaceae* (SCANNERINI i BONFANTE-FASDO 1983). Nie ma także istotnych różnic pomiędzy mikoryzami naturalnymi a uzyskanymi w warunkach sterylnych. Przedstawiony poniżej obraz ultrastruktury ektomikoryz *P. sylvestris* dotyczy symbiozy sosny zwyczajnej utworzonej metodą *in vitro* z grzybem *Suillus variegatus* (WARMBRODT i ESCH-RICH 1985a; 1985b). Fragment ultrastrukturalnego obrazu tej mikoryzy przedstawiono na rycinie 5.34.

## 5.5.3.1. MUFKA

Grzyb tworzy wyraźnie ukształtowaną mufkę o grubości 3 do 10 komórek, otaczającą także wierzchołek korzenia. Wyliczono, że w 100 mg suchej masy korzenia udział mufki wynosi 25-35 mg (MELIN i NILSSON 1958; HARLEY i SMITH 1983a). Podczas gdy komórki zewnętrzne mufki ułożone są stosunkowo luźno, z licznymi przestrzeniami międzykomórkowymi, to strzępki grzybniove bliższe komórkom gospodarza ułożone są ściślej i tworzą tkankę pseudoparenchymatyczną z nielicznymi przestrzeniami międzykomórkowymi. U sosny zwyczajnej strzępki mufki grzybniovej ułożone są w sposób raczej przypadkowy i nie wykazują jakiegos specjalnego ukierunkowania w stosunku do osi korzenia. Wygląd mufki grzybniovej może różnić się w zależności od gatunku grzyba



Ryc. 5.35. Przegrody występujące w ścianach komórek grzybów mikoryzowych: A - przegroda prosta, charakterystyczna dla grzybów z *Ascomycetes*; B - przegroda beczułkowatkształtna charakterystyczna dla grzybów z *Basidiomycetes* (wg MOORE 1965)

tworzącego symbiozę ektomikoryzową (DOMINIK 1956; INGLEBY i in. 1990). Na rycinie 5.34 przedstawiono schemat różnych typów mufki grzybniovej obserwowanej na korzeniach sosny.

Przestrzenie międzykomórkowe mufki wypełnione są przez matriks o charakterze śluzowatym produkowaną przez strzępki grzybniove, bądź substancjami fenolowymi pochodzącymi ze zdegradowanych komórek czapeczki korzeniowej. W mikroskopie elektronowym, matriks przedstawia się jako materiał ziarnisty lub substancja gęsta dla elektronów, niemal całkowicie zatykająca przestrzenie międzykomórkowe mufki grzybniovej. Ściany komórkowe strzępek grzybniowych tworzących mufkę nie różnią się istotnie grubością. W ścianach tych występują niekiedy porowate przegrody. Pory te mogą być proste (ryc. 5.35A), typowe dla *Ascomycetes* lub beczułkowatkształtne (ryc. 5.35B), charakterystyczne dla *Basidiomycetes* (MOORE 1965; SCANNERINI i BONFANTE-FASDO 1983). Szczegółowa analiza przegród beczułkowatkształtnych pozwala niekiedy na wstępną identyfikację symbionta grzybowego aż do rodzaju (PATTON i MARCHANT 1978). Wszystkie komórki mufki grzybniovej zawierają protoplasty o podobnym wyglądzie i składzie. Każdy protoplast jest otoczony plazmalemą, zawiera jądro, zmienną liczbę jajowatych mitochondriów, sieć błon szorstkiego retikulum endoplazmatycznego i diktiosomy (aparat GOLGIEGO). Niektóre komórki zawierają małe, gęste dla elektronów ciała ziarniste o średnicy 1  $\mu\text{m}$ . Ciała te zidentyfikowano jako produkt zapasowy typowy dla grzybów - glikogen (FOSTER i MARKS 1966; PIGOTT 1982; DUDDRIDGE i READ 1984a; 1984b). Wewnątrz protoplastu każdej komórki grzybowej wchodzącej w skład mufki znajdują się liczne wakuole, zawierające niekiedy niewielkie ciała, gęste dla elektronów, które są prawdopodobnie ziarnami polifosforanowymi (STRULLU i in. 1982; DUDDRIDGE i READ 1984a; 1984b).

## 5.5.3.2. WARSTWA TANINOWA

Pomiędzy mufką i siecią HARTIGA skupione są silnie zabarwione komórki, tworzące tzw. warstwę taninową. Na warstwę tę składają się zarówno komórki gospodarza, jak i grzyba, ale tylko komórki gospodarza są wypełnione materiałem gęstym dla elektronów, zidentyfikowanym jako substancje fenolowe (FOSTER i MARKS 1966; LING-LEE i in. 1977; PIGOT 1982). Na ogół przyjmuje się, że

komórki gospodarza w strefie warstwy taninowej są martwe (WARMBRODT i ESCHRICH 1985a). Komórki grzybniove przechodzące przez warstwę taninową są pod względem wielkości, kształtu, obecności por w przegrodach poprzecznych (pojedyncze lub bezułkowatkształtne) oraz składu komórki podobne do komórek grzybniowych mufki i sieci HARTIGA. Niekiedy komórki tej strefy bywają nieco zniszczone (HOFSTEN 1969; WARMBRODT i ESCHRICH 1985a). Wydaje się, że wytworzenie warstwy taninowej stanowi swoistą reakcję obronną drzewa na kontakt z grzybem mikoryzowym i chroni wewnątrz korzenia (walec osiowy) przed zbyt wybujałym rozrostem grzybni (WILCOX 1964; BAUER i in. 1991).

### 5.5.3.3. SIEĆ HARTIGA

Terminem tym określa się region, w którym strzępki grzybniove rozprzestrzeniają się pomiędzy komórkami gospodarza i gdzie niekiedy silnie się rozgałęziają, tworząc często kilka warstw komórek pomiędzy komórkami kory pierwotnej. W ektomikoryzie sosny strzępki grzybniove nie wchodzi do wnętrza protoplastów komórek gospodarza. Komórki gospodarza w regionie sieci HARTIGA są stosunkowo cienkościennie i na ogół równowymiarowe (izodiametryczne), choć zdarzają się również powiększone stycznie. Protoplasty komórek kory pierwotnej z regionu sieci HARTIGA otoczone są plazmalemą, która tworzy liczne wypustki do cytoplazmy, za pomocą których odbywa się prawdopodobnie transfer pokarmów organicznych i nieorganicznych pomiędzy gospodarzem i symbiontem grzybowym.

Każda komórka gospodarza w regionie sieci HARTIGA zawiera wielką centralną wakuolę otoczoną tonoplastem, wzdłuż którego umiejscowione są liczne ciała, od okrągłych do jajowatych, gęste dla elektronów, zidentyfikowane jako substancje polifenolowe (FOSTER i MARKS 1966; DEBAUD i in. 1981; PIGOTT 1982; WARMBRODT i ESCHRICH 1985a). Przyścienna warstwa cytoplazmy komórek gospodarza jest stosunkowo gęsta i, z wyjątkiem miejsca, w którym znajduje się jądro, bardzo cienka. Obok wyróżniającego się jądra, cytoplazma każdej komórki zawiera liczne mitochondria, plastydy z niewielką liczbą ziaren skrobiowych, szorstkie

retikulum endoplazmatyczne i diktiosomy. Choć plastydy komórek gospodarza zawierają nieco ziaren skrobiowych, to jest ich mniej niż w korzeniach bez mikoryzy (WARMBRODT i ESCHRICH 1985a). Jest to interpretowane jako jeden z dowodów na translokację węglowodanów od gospodarza do grzyba (FOSTER i MARKS 1966; 1967).

Strzępki grzybniove w rejonie sieci HARTIGA są mniej lub bardziej otoczone przez warstwę substancji o charakterze polisacharydowo-białkowym (tzw. cement), pochodzenia zarówno grzybowego, jak i będących wytworem ścian komórkowych korzenia (DUDDRIDGE i READ 1984c; DEXHEIMER i PARGNEY 1991).

Komórki strzępek grzybniowych, które składają się na sieć HARTIGA najczęściej nie odróżniają się strukturalnie ani cytologicznie od tych, które tworzą mufkę albo przechodzą przez warstwę taninową. Pewnym modyfikacjom podlegają jedynie ściany komórkowe obu partnerów mikoryzowych, szczególnie w mikoryzach starszych. Transformacje te są wyrazem wzajemnego dostosowania się obu partnerów do wymiany pokarmów (DEXHEIMER i PARGNEY 1991).

Protoplasty komórek grzybniowych w tym rejonie są otoczone plazmolemą i zawierają liczne wakuole o różnej wielkości. Wakuole te są albo pozbawione widocznej zawartości, albo też zawierają materiał ziarnisty, prawdopodobnie ziarna polifosforanowe (STRULLU i in. 1981; 1982; WARMBRODT i ESCHRICH 1985a). Ponadto cytoplazma każdej komórki grzybniowej w regionie sieci HARTIGA zawiera wszystkie składniki opisane wcześniej dla komórek mufki, tj. jądro, liczne mitochondria, szorstkie retikulum endoplazmatyczne, pojedyncze rybosomy i diktiosomy oraz ziarna glikogenu.

W korzeniach mikoryzowych, po wykształceniu się sieci HARTIGA, istnieją nadal regiony, gdzie komórki gospodarza nie są całkowicie fizycznie odseparowane przez strzępki grzybni. Cytoplazma poszczególnych komórek łączy się ze sobą poprzez plazmodesmy, tworząc wewnętrzny, symplastyczny system połączeń, poprzez który mogą być transportowane substancje rozpuszczone (WARMBRODT i ESCHRICH 1985a). Ostatnie badania wykazały, że organizacja sieci HARTIGA pozwala na dwukierunkowy przepływ jonów i cząsteczek, od grzyba do komórek korzenia i z komórek korzenia do grzyba (KOTTKE i OBERWINKLER 1987). Do najważniejszych elementów specjalnego uorganizowania grzybni w obrębie sieci HARTIGA należą: ograniczenie przegród w strzępkach grzybniowych oraz ścisłe przyleganie strzępek do siebie. Daje ono w efekcie strukturę tzw. cenocyticzną, która odpowiada komórkom przewodzącym roślin

wyższych (KOTKE i OBERWINKLER 1987). LEI i DEXHEIMER (1988) zlokalizowali ATP-azę w mikoryzie *P. sylvestris* z grzybem *Laccaria laccata* i przypisują jej ważny udział w aktywnym transporcie pokarmów pomiędzy obu partnerami mikoryzowymi. Aktywność związanej z plazmalemą ATP-azy wykazywały zarówno komórki kory pierwotnej korzenia, jak i komórki grzybowe połączone z mufką, mufka grzybniowa i sieć HARTIGA. O zaangażowaniu ATP-azy plazmalemowej w aktywnym transporcie pomiędzy grzybnią i korzeniem świadczy to, że w komórkach degenerujących i zamierających aktywność ATP-azy zanikała.

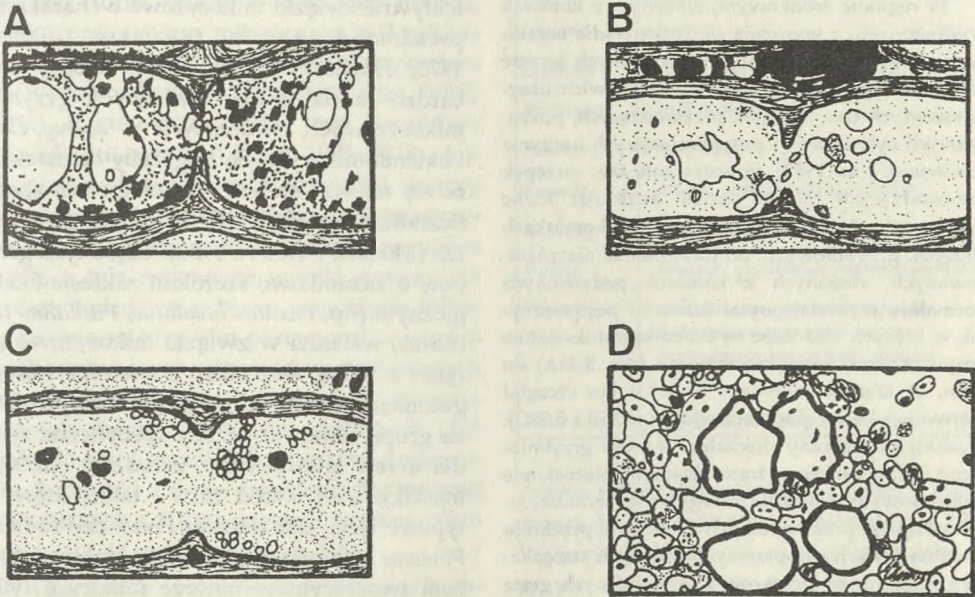
#### 5.5.3.4. ENDODERMA I WALEC OSIOWY W KORZENIACH MIKORYZOWYCH

Endoderma stanowi jedną warstwę komórek odgraniczających walec osiowy od regionu kory pierwotnej korzenia. Ponieważ endoderma tworzy najwyraźniej barierę, przez którą nie przenikają strzępki grzybni z sieci HARTIGA, walec osiowy pozostaje wolny od

grzybni. Wykazano, że w swojej zasadniczej organizacji komórki endodermy i walca osiowego ektomikoryz *P. sylvestris* tworzonych *in vitro* z grzybem *Suillus variegatus* są podobne do tych samych tkanek na korzeniach bez mikoryz (WARMBRODT i ESCHRICH 1985a).

#### 5.5.3.5. STRUKTURA I FUNKCJA EKTOMIKORYZOWYCH SZNURÓW GRZYBNIOWYCH

Większość dotychczasowych badań nad funkcjonowaniem mikoryz prowadzono na poziomie izolowanych, pojedynczych korzeni, bądź pojedynczych całych roślin. Tymczasem w naturze mikoryzy nie występują jako izolowane jednostki, a raczej jako składniki wielkiego ekosystemu leśnego, pozostającego w różnorodnej zależności. BROWNLEE i wsp. (1983) wykazali, że w obrębie mikoryz ważną integrującą funkcję spełniają mikoryzowe sznury grzybniowe zwane też rizomorfami.



Ryc. 5.36. Powstawanie i struktura mikoryzowych sznurów grzybniowych: A – przekrój podłużny przez młodą, różnicującą się strzępkę przewodzącą z przerwaną już ścianą poprzeczną, ale zachowaną jeszcze cytoplazmą (x 7300); B – późniejsze stadium różnicowania się naczynia z niewielką już ilością cytoplazmy, ale jeszcze resztką ściany poprzecznej (x 4000); C – niemal całkowity rozkład ściany poprzecznej, brak cytoplazmy (x 3800); D – przekrój poprzeczny przez sznur grzybniowy *Suillus bovinus*, pokazujący centralną wiązkę strzępek naczyniowych (przewodzących) otoczonych strzępkami wypełnionymi cytoplazmą (x 1900), (wg BROWNLEE i in. 1983)

Mogą one rozprzestrzeniać się od rośliny do rośliny zapoczątkowując symbiozę mikoryzową kolejnych siewek. Powstające w ten sposób połączenia umożliwiają funkcjonalny szlak dla przepływu asymilatów pomiędzy poszczególnymi osobnikami. Mikoryzowe sznury grzybniowe, stanowią także szlak dla transportu fizjologicznie istotnych ilości wody.

Na podstawie obserwacji symbiozy mikoryzowej uzyskanej drogą sterylnych kultur *P. sylvestris* z grzybem *Suillus bovinus* (maślak sitarz) opisano szczegółową strukturę mikoryzowych sznurów grzybniowych dokonaną w transmisyjnym mikroskopie elektronowym (DUDDRIDGE i in. 1980; BROWNLEE i in. 1983). Na przekroju podłużnym (ryc. 5.36A, 5.36B i 5.36C) sznur grzybniowy wykazuje zróżnicowanie na region środkowy (rdzeń) o wydłużonych komórkach, na ogół pozbawionych cytoplazmy oraz warstwę korową, złożoną z komórek mniej wydłużonych, często wypełnionych gęstą cytoplazmą.

W regionie środkowym, złożonym z komórek wydłużonych, a wyróżnia się różne stadia organizacji strzępek, od komórek wypełnionych jeszcze zawartością cytoplazmatyczną, do całkowicie ukształtowanych tzw. strzępek przewodzących, pozbawionych cytoplazmy i przypominających naczynia (BROWNLEE i in. 1983). Powstawanie tzw. strzępek przewodzących można śledzić analizując różne stadia rozkładu ścian poprzecznych w komórkach strzępek grzybniowych: od form niemal niezróżnicowanych, złożonych z komórek podzielonych normalnie wykształconymi ścianami poprzecznymi, w których widoczne są beczulkowatkształtne pory oraz treść cytoplazmatyczna (ryc. 5.36A) do form, w których widoczne są już tylko szczątki pierwotnej ściany poprzecznej (ryc. 5.36B i 5.36C). Przekrój poprzeczny dojrzałego sznura grzybniowego *Suillus bovinus* w transmisyjnym mikroskopie elektronowym wykazuje nieregularne rozmieszczenie strzępek przewodzących o dużym przekroju i pozbawionych cytoplazmy, otoczonych strzępkami o mniejszym przekroju i wypełnionych gęstą cytoplazmą (rys. 5.36D).

Mikoryzowe sznury grzybniowe stanowią ważny element rozprzestrzeniania się symbiozy mikoryzowej do korzeni młodych siewek, a także stanowią funkcjonalny szlak transportu asymilatów od jednej rośliny do drugiej (REID i WOODS 1969; DUDDRIDGE i in. 1988). Transport ten spełnia ważną rolę ekologiczną i fizjologiczną w naturze,

gdzie kiełkowanie nasion drzew leśnych, często ma miejsce pod osłoną wyższych pięt drzew, dających znaczny cień. Badania BROWNLEE i wsp. (1983) sugerują, że dzięki istnieniu mikoryzowych sznurów grzybniowych system korzeniowy rozwijającej się siewki może szybko zostać zainfekowany przez grzyby będące w mikoryzowym związku z dojrzałymi drzewami i w konsekwencji asymilaty syntetyzowane w całkowicie oświetlonej koronie wyższych pięt drzew dostarczane są rozwijającym się, ocienionym siewkom.

#### 5.5.4. GRZYBY MIKORYZOWE SOSNY

##### 5.5.4.1. GATUNKI GRZYBÓW TWORZĄCYCH MIKORYZĘ Z *PINUS SYLVESTRIS*

Grzyby mikoryzowe sosny obejmują znaczną liczbę gatunków o szerokiej skali właściwości mikoryzowych. Są wśród nich gatunki, które są powszechnie obecne w regionie korzeniowym, jak *Rhizoctonia sylvestris* czy *Mycelium radices atrovirens* i tworzą nieefektywne związki mikoryzowe o charakterze pseudomikoryzowym (RICHARDS i FORTIN 1973; HARLEY i SMITH 1983a; 1983b) oraz bardzo liczna grupa właściwych grzybów mikoryzowych, tworzących z sosną ekto- i ektendomikoryzę. Są to grzyby odznaczające się różnym stopniem ekologicznej specyficzności w stosunku do sosny jako gospodarza (MOLINA i TRAPPE 1982). Część tych grzybów o stosunkowo szerokim zakresie ekologicznym (np. *Paxillus involutus*, *Pisolithus tinctorius*) wchodzi w związki mikoryzowe nie tylko z sosną, lecz także z wieloma innymi gatunkami drzew iglastych i liściastych. Dużą grupę stanowią grzyby specyficzne tylko dla drzew iglastych (np. z rodzaju *Suillus* – maślak), a są wśród nich i takie, które są typowe tylko dla rodzaju *Pinus* czy rodziny *Pinaceae* (najprawdopodobniej takim grzybem tworzącym w naturze mikoryzę tylko w obrębie rodziny *Pinaceae* jest *Rhizopogon* sp.). Wydaje się, że nie ma wśród symbiontów mikoryzowych *P. sylvestris* gatunku grzyba typowego tylko i wyłącznie dla tego drzewa.

Pod względem systematycznym symbionty mikoryzowe sosny, podobnie jak innych drzew leśnych, należą głównie do *Hymenomy-*



etes i *Gasteromycetes* z klasy *Basidiomycetes*. Słabiej zbadany jest udział i charakter symbiotyczny grzybów z klasy *Ascomycetes*, prawdopodobnie tworzących z sosną związki głównie o charakterze ektendomikoryzowym.

Na liście opracowanej na podstawie obserwacji terenowych nad grzybami towarzyszącymi sośnie w różnych zespołach leśnych znajduje się około 110 gatunków grzybów mikoryzowych (TRAPPE 1962). Z badań laboratoryjnych przy zastosowaniu metody syntezy mikoryzowej w czystych kulturach, uznawanej niekiedy za najważniejsze i ostateczne kryterium związku mikoryzowego drzewa z danym gatunkiem, wykazano zdolność tworzenia efektywnych mikoryz ektotroficznych przez *P. sylvestris* z 50 gatunkami grzybów (PACHLEWSKI 1967; 1983; PACHLEWSKI i PACHLEWSKA 1974; RUDAWSKA 1986a; SÖDERSTRÖM i in. 1986).

Ogromny wkład do wiedzy nad izolacją grzybní mikoryzowej z owocników czy określonych form mikoryz, ich identyfikacją, a następnie syntezą mikoryzową z *P. sylvestris* w czystych kulturach wniosły prowadzone w Polsce badania PACHLEWSKIEGO (1967; 1983), PACHLEWSKIEJ (1968) oraz PACHLEWSKIEJ i PACHLEWSKIEGO (1968; 1971; 1974). Autorzy ci podkreślają, że o ile wyniki syntezy laboratoryjnej jako testu mikoryzowego grzyba, są miarodajne przy związkach pozytywnych, o tyle negatywne wyniki syntezy nie muszą świadczyć o braku współżycia mikoryzowego między obu partnerami w warunkach naturalnych. Spośród wyizolowanych przez siebie 137 gatunków grzybów towarzyszących sośnie na różnych siedliskach (123 gatunki *Basidiomycetes*, 6 gatunków *Ascomycetes*, 2 gatunki z *Fungi Imperfecti*) PACHLEWSKI i PACHLEWSKA (1974) uzyskali syntezę mikoryzową z 44 gatunkami (tab. 5.5).

Obserwacje grzybów kapeluszowych, towarzyszących sośnie w zespołach leśnych wskazują, że w różnych stadiach rozwojowych drzewostanów sosnowych występują charakterystyczne grupy gatunków grzybów symbiotycznych (PACHLEWSKI i PACHLEWSKA 1971). We wczesnym wieku sosny, w różnych warunkach siedliskowych, często dominują

grzyby z rodzaju *Suillus* (maślak), znane jako grzyby wykazujące stosunkowo wysoki stopień specjalizacji symbiotycznej względem drzew iglastych. W uprawach i młodnikach sosnowych bardzo typowe jest występowanie

Tabela 5.5

Lista grzybów, z którymi uzyskano syntezy mikoryzowej z sosną zwyczajną w czystych kulturach *in vitro* (wg PACHLEWSKI i PACHLEWSKA 1974; PACHLEWSKI 1983)

Rodzaj	Gatunek
<i>Amanita</i>	<i>citrina, gemmata, muscaria, pantherina, rubescens, verna</i>
<i>Cenococcum</i>	<i>graniforme (geophilum)</i>
<i>Coltricia</i>	<i>perennis</i>
<i>Cortinarius</i>	<i>armillatus, mucosus, pseudocrassus, vibratilis</i>
<i>Gomphidius</i>	<i>roseus</i>
<i>Hebeloma</i>	<i>crustuliniforme, mesophaeum, radicosum</i>
<i>Hygrophorus</i>	<i>hypothejus</i>
<i>Laccaria</i>	<i>laccata</i>
<i>Lactarius</i>	<i>rufus, salmonicolor, subdulcis, uvidus</i>
<i>Mycelium</i>	<i>radicis atrovirens</i>
<i>Paxillus</i>	<i>involutus</i>
<i>Russula</i>	<i>adusta, chamaelontina, enetica</i>
<i>Rhizopogon</i>	<i>luteolus, rubescens</i>
<i>Suillus</i>	<i>bovinus, granulatus, luteus, variegatus</i>
<i>Tricholoma</i>	<i>albobruneum, flavovirens, focale, imbricatum, pessundatum, portentosum, sejunctum, sudum, terreum</i>
<i>Tuber</i>	<i>albidum, puberulum</i>

grzyba mikoryzowego *Suillus luteus* – maślak zwyczajny (PACHLEWSKI i PACHLEWSKA 1971). Wskazywałoby to na ważną rolę, jaką ten grzyb odgrywa we współżyciu mikoryzowym sosny w jej młodocianym stadium rozwojowym. Inne gatunki grzybów z rodzaju *Suillus* mają węższą amplitudę ekologiczną i nie są tak pospolite w młodych sośninach. I tak symbiont mikoryzowy *S. bovinus* (m. sitarz) i *S. variegatus* (m. pstry), występują z sosną na glebach piaszczystych i podmok-

łych, *S. granulatus* (m. ziarnisty), spotykany jest głównie na glebach wapiennych, suchych, a występowanie grzyba *S. flavidus* (m. żółtawy) ogranicza się do młodych sośnin na glebach podmokłych, bagiennych (PACHLEWSKI i PACHLEWSKA 1971).

Późniejszy okres rozwoju drzewostanu sosnowego charakteryzuje się sukcesją nowych, licznych gatunków grzybów kapeluszowych towarzyszących sośnie, a obejmujących przede wszystkim grzyby z rodzin *Cortinariaceae*, *Amanitaceae*, *Russulaceae*, *Boletaceae* i *Tricholomataceae*. Występująca u sosny sukcesja grzybów mikoryzowych spowodowała wprowadzenie określeń „grzyby wczesnego i późnego stadium rozwojowego”, odnoszących się do symbiontów, które pojawiają się w symbiozie mikoryzowej wcześniej (np. *Thelephora terrestris*, *Suillus* sp.) lub późno (np. *Russula* sp., *Amanita* sp.) (DIGHTON i MASON 1985; DIGHTON i in. 1986). Wydaje się, że zjawisko sukcesji spowodowane jest zróżnicowaną fizjologią sosny jako rośliny-gospodarza w różnych etapach jej rozwoju. Problem dotyczy głównie intensywności fotosyntezy oraz metabolizmu regulatorów wzrostu, jak również zmian we właściwościach gleby powodowanych starzeniem się drzewostanu (FLEMING 1984; DIGHTON i in. 1986).

Ostatnio obserwacje zjawiska sukcesji w drzewostanach sosnowych zostały znacznie zakłócone w wyniku zanieczyszczenia środowiska (patrz rozdz. 5.5.8). Wpływa ono szczególnie negatywnie na grzyby późnego stadium rozwojowego sosny: przykładem może być zanikanie gatunku *Cantharellus cibarius* – pieprznik jadalny, zwanego popularnie kurką (ryc. 5.39) (JANSEN i in. 1985; JANSEN i VAN DOBBEN 1987; TERMORSHUIZEN i SCHAFFERES 1987).

#### 5.5.4.2. WYMAGANIA POKARMOWE GRZYBÓW MIKORYZOWYCH

Grzybnię wielu symbiontów mikoryzowych sosny można uzyskać z owocników, korzeni mikoryzowych bądź z kiełkujących spor i jako grzybnię wegetatywną hodować na pożywkach stałych lub płynnych o zmiennej zawartości pokarmów organicznych i nie-

organicznych, zróżnicowanym pH, ciśnieniu osmotycznym itp. Można w ten sposób uzyskać wiele cennych informacji na temat metabolizmu samych grzybów, a pośrednio także funkcjonowania mikoryz. Zwykle bada się wzrost grzybów mikoryzowych określając ich świeżą lub suchą masę, wzrost radialny lub w bardziej specjalistycznych badaniach zawartość białka w grzybni, aktywność enzymów, produkcję witamin czy wydzielanie niektórych regulatorów wzrostu, np. auksyn czy cytokinin.

Źródło węgla w rozwoju symbiontów mikoryzowych sosny w naturalnych warunkach zależy bardzo ściśle od związku mikoryzowego z drzewem, a dokładniej od węglowodanów przekazywanych od gospodarza do grzyba. W przeciwieństwie bowiem do roślin samożywnych, zawierających chlorofil, grzyby nie mogą same syntetyzować cukrów, a także nie posiadają na ogół enzymów zdolnych rozłożyć skomplikowane polimery węglowe jakie znajdują się w ściółce i humusie (np. lignina, celuloza). Istnieje pogląd, że grzyby mikoryzowe z braku właściwego symbionta, trwają w stanie wegetatywnym w glebie i wytwarzają owocniki dopiero w czasie wejścia w związki mikoryzowe z odpowiednim partnerem – drzewem (HARLEY 1959; PACHLEWSKI 1963).

Z licznych badań nad wykorzystaniem różnych źródeł węgla przez grzyby mikoryzowe (FERRY i DAAS 1968; LUNDEBERG 1970; LAIHO 1970; PALMER i HACSKAYLO 1970; LAMB 1974) wynika, że większość grzybów mikoryzowych wymaga prostych monosacharydów jako źródeł węgla, tj. glukozy, mannozy i fruktozy, wykazuje natomiast bardzo ograniczoną zdolność wykorzystania ligniny i celulozy. Pewną aktywność celulozową grzybów ektomikoryzowych wykazali LYR (1963), RITTER (1964), TOMASZEWSKI i WOJCIECHOWSKA (1974), PACHLEWSKI i CHRUSCIAK (1979) oraz MAJOLA i wsp. (1991), lecz na poziomie dużo niższym, niż to ma miejsce u innych grzybów zdolnych do rozkładu ściółki i drewna (NIINI i in. 1988).

Pod względem wykorzystania azotu wymagania ektomikoryzowych symbiontów sosny podobne są do wymagań innych grzybów (HARLEY i SMITH 1983a; 1983b). Jon amonowy jest głównym źródłem azotu w glebach leśnych, w których najczęściej występują grzyby ektomikoryzowe. Na

ogół uważa się też, że jon amonowy jest korzystniejszym źródłem azotu dla grzybów mikoryzowych w czystych kulturach, niż jon azotanowy (NORKRANS 1950; LUPPI i FONTANA 1967; LAIHO 1970; LUNDEBERG 1970; RUDAWSKA 1981; 1983; LITKE i in. 1984; FRANCE i REID 1984). Grzyby ektomikoryzowe rosną także na azocie organicznym i to niekiedy lepiej niż na pozostałych formach azotu (RUDAWSKA 1982). *Lactarius deliciosus* (mleczaj rydz), który bardzo słabo rośnie na azocie nieorganicznym rozwijał się dobrze na mieszaninie aminokwasów. Inne gatunki mikoryzowe wykorzystywały w różnym stopniu takie organiczne źródła azotu, jak mocznik (LAIHO 1970; RUDAWSKA 1982), asparagina, glicyna, kwas glutaminowy i asparaginowy (NORKRANS 1953; HACSAYLO i in. 1954; OORT 1981; PEELER i MULLINS 1982; RUDAWSKA 1982), hydrolizat caseiny i pepton (LAIHO 1970). Mimo jednak dość znacznych możliwości korzystania z azotu organicznego, grzyby mikoryzowe wydają się niezdolne do przekazywania pobranego azotu do rośliny gospodarza. U grzybów etomikoryzowych dwa szlaki metaboliczne wiążą się z bezpośrednim włączeniem jonu amonowego w celu wytworzenia azotowych związków organicznych (PLASSARD i in. 1985). Są to 1) szlak dehydrogenazy glutaminianowej-GDH oraz 2) tzw. szlak GS/GOGAT, z następczym działaniem enzymów syntetazy glutaminowej (GS) oraz syntazy glutaminianowej (GOGAT) (patrz rozdz. 5.4). Szlak GDH dominuje u grzybów (POTEMAN i KINGHORN 1975; MARZLUF 1981), ale u grzybów ektomikoryzowych został, jak dotąd, wykazany jedynie u *Cenococcum graniforme* z *Ascomycetes*, a w najpowszechniejszej grupie grzybów ektomikoryzowych przynależnych do *Basidiomycetes* jedynie u gatunków *Hebeloma cylindrosporum* i *Laccaria bicolor* (MARTIN i in. 1983; WAGNER i in. 1988; AHMAD i in. 1990). Bardzo niską aktywność dehydrogenazy glutaminianowej stwierdzono u 9 pospolitych symbiontów mikoryzowych sosny zwyczajnej (RUDAWSKA i KIELISZEWSKA 1992). Szlak GS/GOGAT jest główną drogą asymilacji jonu amonowego u roślin wyższych (OAKS i HIREL 1985), a ostatnio stwierdzono różnicowaną aktywność syntetazy glutaminowej także u szeregu grzybów ektomikoryzowych, symbiontów sosny zwy-

czajnej (RUDAWSKA i KIELISZEWSKA 1992; RUDAWSKA i in. 1993).

Choć większość badań dotyczących absorpcji azotu przez grzyby mikoryzowe bierze pod uwagę proste, nieorganiczne formy azotu, to jak wspomniano już wcześniej, grzyby są również zdolne wykorzystywać wiele aminokwasów, a nawet składniki azotowe bardziej złożone (polipeptydy, białka), które występują w glebach leśnych (CHALLOT i in. 1988). Zdolność do wykorzystywania białka jako źródła azotu wymaga interwencji proteaz, enzymów zdolnych do ich depolimeryzacji. Aktywność proteaz w ekstraktach z grzybni i filtratach pochodowlanych wykazano u niektórych grzybów mikoryzowych (PACHLEWSKI i CHRUŚCIAK 1980; RAMSTEDT i SÖDERHALL 1983; BOTTON i in. 1985).

Fosfor nieorganiczny jest łatwo przyswajalny przez grzyby i nie wpływa ujemnie na ich wzrost nawet w bardzo wysokich stężeniach (RUDAWSKA 1979). Może to być związane ze zdolnością grzybów ektomikoryzowych do akumulacji znacznej ilości fosforu w wakuolach, w postaci ziaren polifosforanowych (FOSTER 1981; LAPEYRIE i in. 1984). Jednocześnie niektórzy autorzy podkreślają stosunkowo niskie zapotrzebowanie grzybów ektomikoryzowych na fosfor, uzyskując optymalny wzrost przy stężeniach znacznie niższych od tych, które stosuje się na ogół w pożywkach syntetycznych (MOUSAIN i SALSAC 1984).

Gleby leśne są na ogół ubogie w rozpuszczalny fosfor dostępny dla roślin. Głównym źródłem fosforu mineralnego w glebie są nierozpuszczalne związki  $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$  na glebach wapiennych i alkalicznych oraz  $\text{FePO}_4$  i  $\text{AlPO}_4$  na glebach kwaśnych. Grzyby ektomikoryzowe obok innych mikroorganizmów obecnych w glebie (np. bakterii *Agrobacterium* sp.) są w stanie mobilizować znaczne ilości tego związanego w nierozpuszczalnych związkach fosforu mineralnego (BOWEN i THEODOROU 1967). Mobilizacja fosforu ze związków nierozpuszczalnych jest wyższa w obecności fosforu rozpuszczalnego (tab. 5.6) (LEYVAL i BERTHELIN 1986). PACHLEWSKI i CHRUŚCIAK (1981) porównali wykorzystanie przez szereg symbiontów mikoryzowych sosny różnych nawozów fosforowych stosowanych w leśnictwie. Wszystkie testowane grzyby wykorzystywały dobrze fosfor z takich nawozów, jak superfosfat pylisty i granulowany,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{AlPO}_4$  i  $\text{FePO}_4$ , przy czym przydatność każdej z form dla różnych grzybów kształtowała się odmiennie. Największe zapotrzebowanie na fosfor stwierdzono u gatunków *Amanita verna* i *Rhizopogon luteolus*. W naturalnych warunkach wzrostu i aktywności grzybów ektomikoryzowych, czyli

Tabela 5.6

Wzrost grzybów ektomikoryzowych na pożywce zawierającej nierozpuszczalne i rozpuszczalne źródła fosforu mineralnego, w mg suchej masy/1 kulturę (wg LEYVAL i BERTHELIN 1986)

Źródło fosforu	Grzyby ektomikoryzowe			
	<i>Laccaria laccata</i>	<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	<i>Paxillus involutus</i>	<i>Scleroderma aurantium</i>
FePO <sub>4</sub>	280	179	118	56
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	198	106	93	27
Flogopit	138	78	26	44
Fosforan rozpuszczalny KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	189	268	108	59

w warstwie humusowej gleby zwykle 50-66% (niekiedy do 90%) fosforu stanowi fosfor organiczny (COSGROVE 1967). Grzyby ektomikoryzowe są zdolne do metabolizowania rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych organicznych związków fosforu, występujących w glebie (np. fityny) (THEODOROU 1971a; BOUSQUET i in. 1986; MOUSAIN i SALSAC 1986; HILGER i KRAUSE 1989). Ta wysoka zdolność grzybów ektomikoryzowych do korzystania z często nierozpuszczalnych, organicznych źródeł fosforu wynika z produkcji przez te grzyby enzymów z grupy kwaśnej fosfatazy (BOWEN i THEODOROU 1967; THEODOROU 1968; 1971a; HO i ZAK 1979; DIGHTON 1983; BOUSQUET i in. 1986; DOUMAS i in. 1986; HILGER i KRAUSE 1989).

Aktywność kwaśnej fosfatazy różni się znacznie wśród grzybów ektomikoryzowych, co oznacza, że niektóre symbionty mogą być bardziej skuteczne w absorpcji fosforu od innych. Aktywność tego enzymu może więc stanowić ważne kryterium selekcji grzybów ektomikoryzowych, gdy mają być one przeznaczone do zaszczepień siewek wysadzanych na tereny zawierające trudno dostępne fosfor (HO i ZAK 1979; TRAPPE 1977).

#### 5.5.4.3. PRODUKCJA REGULATORÓW WZROSTU PRZEZ GRZYBY MIKORYZOWE

Hormonalna teoria regulacji symbiozy mikoryzowej zakłada ważny udział metabolitów produkowanych przez grzyby ektomikoryzowe w inicjowaniu, a następnie funkcjonowaniu symbiozy mikoryzowej. Do substancji tych należą m.in. auksyny, cytokiny, gibbereliny i etylen.

#### 5.5.4.3.1. Auksyny

Znaczenie auksyny grzybowej w formowaniu się symbiozy mikoryzowej podkreślili po raz pierwszy MAC DOUGALL i DUFRENOY (1944), którzy metodami cytochemicznymi wykazali w mikoryzowych korzeniach sosny podwyższony poziom auksyn, szczególnie w rejonie grzybni otaczającej korzeń oraz w mułce grzybniowej. Ideę roli auksyny w mikoryzie podjął SLANKIS (1949; 1950; 1951), który indukował tworzenie „niby-mikoryzowych” struktur na korzeniach sosny za pomocą filtratów z kultur grzybów ektomikoryzowych lub egzogennej auksyny. Na podstawie wyników swoich badań SLANKIS (1973) sformułował hormonalną teorię regulacji symbiozy mikoryzowej, w której podkreślał kluczową rolę auksyny grzybowej w powstawaniu organów mikoryzowych (patrz rozdz. 5.5.7).

Większość grzybów ektomikoryzowych hodowanych w czystych kulturach produkuje auksynę, kwas 3-indoliloctowy (IAA), na pożywkach uzupełnionych tryptofanem, który jest naturalnym prekursorem syntezy tego hormonu (MOSER 1959; ULRICH 1960; TOMASZEWSKI i WOJCIECHOWSKA 1974; STRZELCZYK i in. 1977; GAY i DEBAUD 1987). Niektóre grzyby ektomikoryzowe, w tym takie popularne symbionty sosny jak *Suillus* sp., syntetyzują auksynę również na pożywkach pozabawionych tryptofanu (TOMASZEWSKI i WOJCIECHOWSKA 1974; RUDAWSKA 1981; 1983; 1986a). TOMASZEWSKI (1974) przeprowadził

szczegółowe badania syntezy auksyny przez 55 gatunków grzybów, które towarzyszą *P. sylvestris* i w większości tworzą z nią symbiozę mikoryzową. Połowa testowanych grzybów syntetyzowała auksynę na pożywce bez tryptofanu, natomiast wszystkie wybrane gatunki kiedy rosły na pożywce zawierającej tryptofan, wykazywały zdolność do syntezy auksyny, choć w bardzo zróżnicowanych ilościach. Autor ostrożnie sugeruje istnienie u grzybów mikoryzowych pewnej korelacji pomiędzy produkcją auksyny i zdolnością oraz szybkością do wchodzenia w symbiozę mikoryzową. Potwierdza tę koncepcję zależność, jaka istnieje pomiędzy szybkością i obfitym nawiązywaniem symbiozy mikoryzowej i zdolnością do produkcji znacznej ilości auksyny w pożywkach bez tryptofanu u takich gatunków, jak *Suillus bovinus*, *Gomphidius roseus*, *Rhizopogon luteolus* i *Laccaria laccata*. Z drugiej jednak strony wyniki uzyskane z takimi gatunkami, jak *Amanita citrina* czy *Tricholoma albobruneum*, które wykazują dużą aktywność mikoryzową przy braku syntezy auksyny pod nieobecność tryptofanu w pożywce, podważają tę koncepcję. TOMASZEWSKI (1974) sugeruje, że grzyby te pobierają prawdopodobnie tryptofan do syntezy auksyny z korzeni sosny. Obecność tryptofanu w korzeniach sosny już w kilka dni od wykiełkowania nasion wykazał TOMASZEWSKI (1968). Ponadto stwierdzono, że niektóre grzyby mikoryzowe są w stanie syntetyzować auksynę także z prekursorów tryptofanu takich jak indol, indol i seryna czy kwas antranilowy (STRZELCZYK i in. 1977; GAY i in. 1989). TOMASZEWSKI i WOJCIECHOWSKA (1974) wykazali też, że u 15 gatunków mikoryzowych należących do *Boletaceae* (*Suillus* sp., *Boletus* sp. *Xerocomus* sp.) produkcja auksyny skorelowana jest z wydzielaniem przez te grzyby ciemnych pigmentów polifenolowych. Ponieważ polifenole znane są jako inhibitory aktywności oksydazy auksynowej, mogą one działać ochronnie na auksynę wydzielaną przez grzyby mikoryzowe. U 26 innych gatunków mikoryzowych z rodzaju *Amanita*, *Russula*, *Cortinarius* i *Hygrophorus*, które nie produkują pigmentów, nie wykazano produkcji auksyny

na pożywce bez tryptofanu. Jednocześnie zaobserwowano, że dodatek polifenoli do pożywki zapobiega enzymatycznej destrukcji auksyny w kulturach *Suillus bovinus* i *S. variegatus*. Podobne zadanie w ochronie auksyny, jak pigmenty polifenolowe produkowane przez grzyby ektomikoryzowe mogą spełniać również polifenole zawarte w korzeniu (RUDAWSKA 1980).

Grzyby ektomikoryzowe różnią się znacznie między sobą pod względem produkcji auksyny (EK i in. 1983). Do symbiontów odznaczających się wyjątkowo wysoką produkcją auksyny należy grzyb *Pisolithus tinctorius* (EK i in. 1983; FRANKENBERGER i POTH 1987). Ostatnie badania wskazują na znaczne zróżnicowanie w produkcji auksyny także pomiędzy szczepami tego samego gatunku. HO (1987a; 1987b) stwierdził istotne zróżnicowanie w syntezie auksyny wśród szczepów grzyba *Pisolithus tinctorius* i *Laccaria laccata*, a GAY i DEBAUD (1987) pomiędzy szczepami *Hebeloma cylindrosporum*. Istnienie owego zróżnicowania, jak podkreślają autorzy, jest powszechne i w związku z tym przy selekcji grzybów do celów praktycznych niezbędna jest ocena wielu izolatów grzybów ektomikoryzowych. Produkcja auksyny przez grzyby ektomikoryzowe zależy w dużym stopniu od warunków odżywczych, takich jak poziom azotu (TOMASZEWSKI i WOJCIECHOWSKA 1974; RUDAWSKA 1982; 1983; 1986b; 1987), fosforu (RUDAWSKA 1983) czy dostępność glukozy (GAY 1986).

Najnowsze osiągnięcia zmierzające do wyjaśnienia roli auksyny grzybowej w mikoryzie zawdzięczamy badaniom GAYA z Uniwersytetu w Lyonie (GAY i in. 1991). Uzyskał on mutanty ektomikoryzowego symbionta sosny *Hebeloma cylindrosporum* o podwyższonej zdolności do produkcji IAA. Mutanty te wykazywały wyższą aktywność mikoryzową oraz tendencję do tworzenia szczególnie rozbudowanej sieci HARTIGA. Wyniki te potwierdzają rolę grzybowej auksyny na etapie tworzenia związku mikoryzowego między komórkami korzenia i grzyba, a szczególnie formowania sieci HARTIGA.

#### 5.5.4.3.2. Cytokiny

Wiele, choć nie wszystkie z dotąd badanych, grzybów mikoryzowych produkuje obok auksyn także cytokiny. MILLER (1971) przypisuje cytokininom pewną rolę w formowaniu organów mikoryzowych, wskazując na podobieństwo pomiędzy powiększonymi

komórkami kory pierwotnej korzenia w ektomikoryzie i analogicznym efektem uzyskanym po potraktowaniu korzeni syntetyczną cytokininą – kinetyną. MILLER (1971) zastosował do badań produkcji cytokinin przez grzyby mikoryzowe test kallusa soi, który rośnie tylko w obecności cytokinin. Hodując na tej samej pożywce mycelium wybranych grzybów mikoryzowych obok kallusa soi, wykazano syntezę cytokinin u szeregu grzybów mikoryzowych z rodzaju *Rhizopogon*, *Suillus*, *Amanita* i *Boletus* (MILLER 1971; CRAFTS i MILLER 1974; TOMASZEWSKI 1974; RUDAWSKA 1980; 1981; 1983; NG i in. 1982). Cytokiny produkowane przez grzyby mikoryzowe zostały zidentyfikowane jako trans-zeatyna i trans-rybozyl-zeatyna oraz ich pochodne (MIURA i MILLER 1969; CRAFTS i MILLER 1974).

KAMPERT i STRZELCZYK (1978) wykazali, że prawie wszystkie grzyby ektomikoryzowe izolowane z mikoryz *P. sylvestris* syntetyzują cytokiny. Zdolność grzybów mikoryzowych do produkcji cytokinin może, według TOMASZEWSKIEGO (1974), wskazywać na udział tego regulatora wzrostu w procesie powstawania mikoryz. U takich grzybów jak *Amanita* sp. i *Lactarius rufus*, u których stwierdzono syntezę cytokinin oraz wysoką aktywność mikoryzową przy jednoczesnym braku syntezy auksyny, być może właśnie cytokiny są odpowiedzialne za dużą łatwość tych symbiontów do wchodzenia w symbiozę (TOMASZEWSKI 1974).

#### 5.5.4.3.3. Gibereliny

Niewiele wiadomo o giberelinach produkowanych przez grzyby mikoryzowe i ich ewentualnym znaczeniu dla symbiozy mikoryzowej. Pierwsze takie badania wykonane na izolatach z ektomikoryz sosny *P. sylvestris*, wykazały produkcję substancji giberelinopodobnych przez wiele grzybów należących do *Basidiomycetes* (STRZELCZYK i in. 1975). GOGALA (1967; 1971) stwierdziła gibereliny w owocnikach oraz hodowanej w czystej kulturze grzybni borowika szlachetnego *Boletus edulis* var. *pinicolus*, a HANLEY i GREEN (1987) w filtratach pochodzących gatunków *Pisolithus*

*tinctorius* i *Thelephora terrestris*. Również PEGG (1973) wykazał obecność substancji giberelinopodobnych w ekstraktach z owocników ektomikoryzowego grzyba *Boletus elegans*. Autor sugeruje możliwość wpływu tego hormonu na wzrost rośliny gospodarza, bądź bezpośrednio przez grzyba, bądź przez zwiększoną syntezę w korzeniach drzewa tworzącego mikoryzę.

#### 5.5.4.3.4. Etylen

Produkcję etylenu przez grzyby ektomikoryzowe stwierdzono w płynnych kulturach zawierających 10 mM metioninę, która jest naturalnym prekursorem syntezy tego hormonu (GRAHAM i LINDERMAN 1980). Gatunki *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata* i *Cenococcum graniforme* zaliczono do grzybów łatwo syntetyzujących etylen. Pozostałych 19 gatunków testowanych grzybów ektomikoryzowych różniło się znacznie w produkcji etylenu. DE VRIES i wsp. (1987) donoszą o obfitej produkcji etylenu przez siewki sosny zwyczajnej z mikoryzą utworzoną przez grzyb *Laccaria laccata*. Jak dotąd brak jest sugestii co do ewentualnej roli etylenu w symbiozie mikoryzowej. Hormonalna aktywność etylenu przypomina pod wieloma względami działanie auksyny, choć jako gaz etylen nie ma działania tak zlokalizowanego jak auksyna.

#### 5.5.5. ZNACZENIE MIKORYZY DLA GRZYBÓW EKTOMIKORYZOWYCH

Uważa się, że grzyby ektomikoryzowe, poza nielicznymi wyjątkami tzw. symbiontów fakultatywnych (*Paxillus involutus*, *Xerocomus subtomentosus*), mogą wytwarzać owocniki jedynie po ustaleniu się związku symbiotycznego z odpowiednim partnerem – drzewem, a do tego czasu pozostają w formie grzybni wegetatywnej (WILDE 1954; PACHLEWSKI 1963; HARLEY i SMITH 1983a). A więc dla swojego zasadniczego procesu życiowego, tj. wytworzenia owocnika i zarodników, czyli reprodukcji, grzyby muszą wejść w związek mikoryzowy z korzeniami drzewa, od którego otrzymują cukry i pewne witaminy. Już FRANK (1885) przypuszczał, że grzyby mikoryzowe otrzymują od

swego symbiotycznego partnera przede wszystkim węglowodany. BJÖRKMANN (1944) obrączkował pędy 3-letnich sosen i wstrzymywał przez to przepływ asymilatów do korzenia. Wskutek tych zabiegów mikoryza ginęła. Stąd wniosek, że dobry rozwój grzybów mikoryzowych zależy od węglowodanów dostarczanych im przez gospodarza. HACSKEYLO (1965) wykazał bezpośredni związek pomiędzy fotosyntezą siewek sosny i tworzeniem owocników przez grzyb ektomikoryzowy *Thelephora terrestris*. W doświadczeniu szklarniowym siewki sosny, wokół których pojawiły się masowo owocniki *T. terrestris*, zostały bądź ogłowione, bądź też pokryte czarną folią polietylenową. W obu przypadkach rozwój owocników został natychmiast zahamowany. Jednak gdy siewki zakryte folią zostały ponownie odsłonięte i wystawione na światło dzienne, owocniki pojawiły się znów w znacznej liczbie. Doświadczenie to jest przykładem bardzo ścisłej zależności cyklu życiowego grzyba od pokarmów dostarczanych przez korzenie drzewa – gospodarza. Jedną z najwcześniejszych prób ilościowego określenia przepływu węglowodanów w mikoryzowych siewkach sosny była praca MELINA i NILSSONA (1957). Za pomocą radioaktywnego dwutlenku węgla  $^{14}\text{CO}_2$  wykazali oni przemieszczanie się znakowanych fotoasymilatów poprzez tkanki *P. sylvestris* do mikoryz utworzonych z grzybami *Suillus variegatus* i *Rhizopogon luteolus* i stwierdzili, że mufka grzybniowa zawierała odpowiednio 80 i 159 % więcej  $^{14}\text{C}$ , niż niemikoryzowe korzenie tej samej siewki. Następne badania przy użyciu znakowanego  $\text{CO}_2$  wykonywane na sosnach *P. sylvestris*, *P. resinosa*, *P. strobus*, *P. taeda* i *P. radiata* potwierdziły w pełni translokację węglowodanów od części nadziemnej sosny do ektomikoryz (SHIROYA i in. 1962; NELSON 1964; BEVEGE i in. 1975; REID i WOODS 1969; FINLAY 1989; BAUER i in. 1991). Stwierdzono nawet, że obecność symbionta grzybowego powoduje szybszy i zwiększony przepływ asymilatów do korzeni mikoryzowych, czyli wpływa na szybkość fotosyntezy (REID i in. 1983; EKWBELAM i REID 1983; NYLLUND i WALLANDER 1989). Dość trudno jest określić na ile kontakt drzewa z odpowiednim symbiontem grzybowym zwiększa przepływ asymilatów do korzeni. W mikoryzowych siewkach *Pinus resinosa* 54% znakowanych asymilatów spłynęło do korzeni, podczas gdy siewki bez mikoryz zlokalizowały w korzeniach tylko 5% radioaktywności (NELSON 1964). W doświadczeniu z *P. sylvestris* SCHWEERES i MEYER (1970) wykazali, że 40% zasymilowanego  $^{14}\text{CO}_2$  znalazło się w korzeniach mikoryzowych, a tylko mniej niż 10% w niemikoryzowych. Węglowodany stanowią główny składnik substancji organicznych

w rurek sitowych. Podstawowym cukrem, który występuje w soku większości roślin naczyniowych, w tym także sosny, jest sacharoza (PATE 1980). Stąd sacharoza albo bezpośrednie produkty jej metabolizmu stanowią pierwotne źródło węgla dla ektomikoryz (MARTIN i in. 1987). Radioaktywna sacharoza była głównym cukrem w korzeniach, lecz nie została wykazana w tkankach grzyba tworzącego mikoryzę (BEVEGE i in. 1975). Uważa się, że sacharoza jest hydrolizowana przez inwertazę zlokalizowaną w ścianach komórkowych do glukozy i fruktozy, a następnie glukoza w większym stopniu niż fruktoza jest absorbowana przez grzyba (MARTIN i in. 1987). W jaki sposób odbywa się przepływ cukrów między tkankami gospodarza i grzyba nie zostało dotąd w pełni wyjaśnione. Z jednej strony mniej lub bardziej obfity rozrost strzępek grzybni pomiędzy komórkami korzenia, czyli sieć HARTIGA, przerywa plazmodesmy łączące komórki kory pierwotnej korzenia (PICHE i in. 1983). Z drugiej strony ostatnie doniesienia wskazują, że cytoplazma części komórek korzenia łączy się jednak poprzez plazmodesmy, tworząc system połączeń (tzw. symplast), wystarczający dla transportu substancji rozpuszczonych (NYLUND 1980; WARMBRODT i ESCHRICH 1985a; 1985b). Cukry pobrane od gospodarza są przekształcane w tkance grzyba w materiały zapasowe: trehalozę, glikogen i mannitol (LEWIS i HARLEY 1965). Szybkie przekształcanie pobranych cukrów w materiały zapasowe zapewnia stały przepływ (gradient) węglowodanów od gospodarza do grzyba. Na utrzymywanie się tego gradientu wpływają także przemiany i szybka degradacja węglowodanów w procesach oddychania, procesach energetycznych oraz wykorzystywanie cukrów do budowy biomasy grzybni (FRANCE i REID 1983). Na przepływ cukrów pomiędzy gospodarzem i grzybem mogą wpływać jeszcze inne czynniki, np. pewne regulatory wzrostu wydzielane przez symbionta grzybowego. Nie wszystkie substancje, które pobiera grzyb od rośliny wyższej w symbiozie mikoryzowej, zostały dotąd rozpoznane. Najlepszym dowodem na to jest ciągły brak sukcesów w sztucznej hodowli mikoryzowych grzybów jadalnych. MELIN (1954) wykazał, że część grzybów ektomikoryzowych nie może wytwarzać pewnych witamin, głównie z grupy B. Dotychczas jednak nie zostało rozstrzygnięte czy grzyby mikoryzowe pokrywają swoje zapotrzebowanie na witaminy z grupy B z gleby, czy też otrzymują je od drzewa.

### 5.5.6. ZNACZENIE MIKORYZY DLA WZROSTU I ROZWOJU SOSNY

Z teoretycznego punktu widzenia wydawać by się mogło, że stan mikoryzowy nie jest dla drzew, w tym również sosny, absolutnie konieczny. Siewki sosny mogą być hodowane aseptycznie bez żadnych związków z grzybem tak długo, jak długo dostępne będą niezbędne pokarmy (MEYER 1974). Jednakże w warunkach naturalnych, gdy brak jest grzybów mikoryzowych w glebie i mikoryz na korzeniach, drzewa wykazują zahamowania wzrostu, a nawet giną. O doniosłości symbiozy mikoryzowej dla wzrostu drzew mogą świadczyć liczne, nieudane próby wprowadzenia sosny w regiony drzew niemikoryzowych lub na tereny pozbawione grzybów mikoryzowych przez dłuższy czas, jak stepy, prerie, gleby torfowe czy nieużytki poprzemysłowe (MIKOŁA 1973). Nieudane były również próby uprawy sosny na glebach porolnych, odznaczających się populacją mikroorganizmów odbiegającą od mikroflory gleb leśnych (DOMINIK 1958; 1959; 1961b; 1963). Sosna w tych warunkach pozbawiona kontaktu mikoryzowego z właściwymi symbiontami grzybowymi łatwo ulegała infekcji przez patogeny korzeniowe i ginęła. Jak podaje PACHLEWSKI (1967), sosna zwyczajna w naturalnym środowisku leśnym, odznacza się stałym współzyciem mikoryzowym w postaci mikoryzy ektotroficznej, która jest warunkiem prawidłowego rozwoju drzewa tego gatunku.

Za najważniejsze funkcje mikoryz uważa się zwiększanie powierzchni chłonnej korzeni oraz ochronę systemu korzeniowego przed patogenami.

### 5.5.6.1. ZWIĘKSZANIE POWIERZCHNI CHŁONNEJ

Postawiona po raz pierwszy przez FRANKA (1885), pioniera badań mikoryzowych, hipoteza o otrzymywaniu przez korzenie drzew wody i soli mineralnych poprzez symbionta grzybowego znalazła potwierdzenie w wielu doświadczeniach. Przeprowadzony w pierwszej połowie naszego stulecia eksperyment (HATCH 1937) wykazał, że ektomikoryzowe siewki sosny były nie tylko znacznie większe od tych bez mikoryz, lecz także absorbowały więcej fosforu, potasu i azotu (tab. 5.7). Jak już wspomniano wcześniej, rozwój ektomikoryz powoduje zanik włosników, a mufka grzybniowa pokrywa wierzchołek korzeni oraz przylegającą do niego delikatną strefę korzeniową. W tej sytuacji woda i sole mineralne pobierane są przez roślinę poprzez partnera grzybowego. Grzyby związane z korzeniami wytwarzają dość gęstą sieć mycelium rozprzestrzeniającą się w glebie, zwiększając tym samym powierzchnię chłonną rośliny (CHALOT i in. 1988) i pozwalając na penetrację gleby na znaczne odległości (20cm i więcej). HARLEY (1969) ocenił, że mikoryzy mają powierzchnię 1000x większą niż niemikoryzowe krótkie korzenie. Zastosowanie izotopów promieniotwórczych potwierdziło hipotezę o odżywianiu się drzew poprzez ektomikoryzy (KRAMER i WILBURG 1949; MELIN i NILSSON 1958; MELIN i in. 1958).

#### 5.5.6.1.1. Absorpcja fosforu

Uważa się, że grzyby ektomikoryzowe i ektomikoryzy są szczególnie skuteczne w uruchamianiu i przekazywaniu fosforu z gleby do rośliny wyższej (HARLEY i SMITH

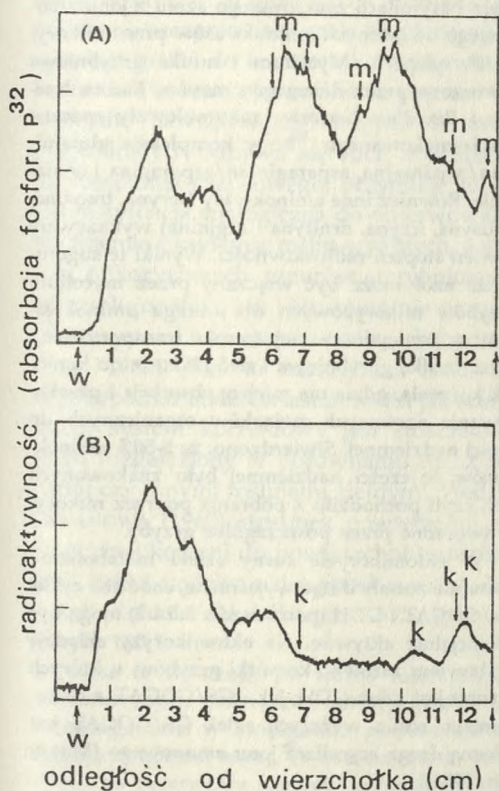
Tabela 5.7

Wpływ mikoryzy na wzrost i zawartość podstawowych pierwiastków w siewkach *Pinus strobus* (wg HATCH 1937).

	Całkowita sucha masa [mg]	Azot	Fosfor	Potas
		całkowita zawartość (w mg na 1 siewkę)		
Kontrola (siewki bez mikoryz)	302,7	2,69	0,236	1,38
Siewki z mikoryzą	404,6	5,00	0,789	3,02



1983a). Zależność pomiędzy prawidłowym zaopatrzeniem drzewa w fosfor i obecnością mikoryz na korzeniach jest tak ścisła, że objawy niedoboru fosforu u *Pinaceae* są niemal jednoznacznym symptomem braku mikoryz na korzeniach (TRAPPE i STRAND 1969). Roślina wyższa może pobierać fosfor tylko w formie rozpuszczalnej. Gleby leśne charakteryzują się na ogół niewielką ilością rozpuszczalnego fosforu nieorganicznego i organicznego. Wykazano, że mikoryzy nie tylko są zdolne do zwiększonej absorpcji fosforu, lecz także mogą wykorzystywać nieorganiczne i organiczne związki fosforu niedostępne lub słabo dostępne dla korzeni niemikoryzowych.



Ryc. 5.37. Pobieranie fosforu wzdłuż korzenia sosny (*P. radiata*) z mikoryzą (A) i bez mikoryz (B). Absorbancja fosforu P z  $5 \times 10^{-4}$  M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  w ciągu 15 minut: m – mikoryza, k – komórki bez mikoryz, w – wierzchołek korzenia (wg BOWEN i THEODOROU 1967)

W doświadczeniu HATCHA (1937) mikoryzowe siewki *P. strobus* pobrały około 0,8 mg fosforu, podczas gdy siewka bez mikoryz tylko 0,24 mg (tab. 5.7). Podobne wyniki uzyskali KRAMER i WILBURG (1949) dla *P. taeda*, LUNDEBERG (1961) dla *P. sylvestris*, a BOWEN i THEODOROU (1967) dla *P. radiata*. Na rycinie 5.37 pokazano, że pobieranie fosforu przez szybko wydłużającą się, pozbawioną grzybni część korzenia jest takie samo na korzeniu mikoryzowym, jak bez mikoryz. Ale o ile dalsza część komórek korzenia bez mikoryz wykazuje znaczny spadek absorpcji fosforu, o tyle mikoryzy zachowują wysoką zdolność do absorpcji fosforu i to przez szereg miesięcy (BOWEN i THEODOROU 1967). Ważnym elementem absorpcji fosforu przez mikoryzy jest zdolność większości grzybów ektomikoryzowych do uwalniania fosforu za pomocą enzymu kwaśnej fosfatazy. Aktywność tego enzymu wykazano w mikoryzach *P. radiata* (BOWEN i THEODOROU 1967), *P. nigra*, *P. pinaster* (DEXHEIMER i in. 1986), *P. halepensis* (DOUMAS i in. 1986) i *P. rigida* (CUMMING i WEINSTEIN 1990).

Aktywność kwaśnej fosfatazy różni się u grzybów mikoryzowych zarówno pomiędzy gatunkami, jak i szczepami, co może być jedną z przyczyn zróżnicowanej skuteczności różnych symbiontów w zaopatrywaniu drzewa w fosfor (HO i ZAK 1979; DIGHTON 1983; MOUSAIN i in. 1988; TYMIŃSKA i in. 1986). Siewki *P. sylvestris* w ektomikoryzie z grzybem *Suillus luteus* absorbowwały więcej znakowanego fosforu z humusu, apatytu i fosforanu żelazowego niż siewki z ektomikoryzą *Amanita muscaria* czy *Cenococcum graniforme* (RITTER i LYR 1965; MEJSTRIK i KRAUSE 1973).

Duża część fosforu w tych warstwach gleby, w których rozwijają się ektomikoryzy, obecna jest w formie związków organicznych. Mikoryzy sosny zdolne są do uwalniania fosforu z nierozpuszczalnej soli wapniowo-magnezowej, tzw. fityny (DOUMAS i in. 1986).

Za pomocą znakowanego fosforu udało się wykazać, że grzybnia *Suillus bovinus* działa jako funkcjonalne przedłużenie systemu korzeniowego sosny, pozwalająca na pobieranie fosforu ze znacznych odległości od korzenia, a dzięki systemowi sznurów grzybniowych umożliwiającą transport tego pierwiastka do rośliny, jak i do odległych części sieci grzybniowej (SKINNER i BOWEN 1974; FINLAY i READ 1986a; 1986b; FINLAY 1989). Ektomikoryzy wpływają dodatnio na pobieranie fosforu przez siewki sosny tylko w warunkach niskiego zaopatrzenia w fosfor, a nawet pewnego niedoboru tego pierwiastka w glebie. Jest to związane z wpływem fosforu na kwaśną fosfatazę, której aktywność w mikoryzach wzrasta wraz ze spad-

kiem poziomiu fosforu w substracie, a spada niemal do zera przy dużej dostępności fosforu (CALLEJA i in. 1980; CALLEJA i d'AUZAC 1983; DOUMAS i in. 1983). Z kolei nawożenie azotowe powoduje wzrost aktywności kwaśnej fosfatazy w korzeniach i mikoryzach sosny, a tym samym wpływa na lepsze zaopatrzenie rośliny w fosfor (KJELISZEWSKA-ROKICKA 1992). Nawożenie fosforowe, a więc wprowadzenie dodatkowej ilości łatwo dostępnego fosforu, może spowodować zahamowanie formowania się mikoryz na korzeniach sosny (MOUSAIN 1975). Natomiast niska zawartość azotu i fosforu w glebie sprzyja powstawaniu mikoryz (LISTER i in. 1968; BJÖRKMAN 1970; KJELISZEWSKA-ROKICKA 1992).

Fosfor pobrany z gleby za pośrednictwem symbionta grzybowego jest bardzo szybko włączany do związków polifosforanowych (HARLEY i LOUGHMAN 1963) i w znacznym stopniu magazynowany w postaci ziaren polifosforanowych zlokalizowanych w wakuolach mufki grzybniowej mikoryz sosny (LING LEE 1975; CHILVERS i HARLEY 1980; FOSTER 1981; DUDDRIDGE i READ 1984a; LAPEYRIE i in. 1984). Zdolność mufki grzybniowej w ektomikoryzie do akumulowania znacznych ilości fosforu w związkach polifosforanowych i szybkiego ich uwalniania w razie potrzeby, czyni ją bardzo ważnym organem zapasowym tego pierwiastka dla rośliny gospodarza. FINLAY (1989) wykazał, że mikoryzy *P. sylvestris* z grzybem *Boletinus cavipes* skutecznie pobierały znakowany fosfor z fosforanu nieorganicznego, a następnie część z tego fosforu przekazywana była z mikoryz do łądyg i igieł.

#### 5.5.6.1.2. Absorpcja azotu

W silnie kwaśnej warstwie humusowej gleby, gdzie głównie koncentrują się korzenie ektomikoryzowe sosny, dostępnymi formami azotu są jony amonowe oraz proste azotowe związki organiczne (HARLEY i SMITH 1983a). Niewielka jest natomiast dostępność azotanów, gdyż niskie pH gleb leśnych oraz obecność fenoli nie sprzyjają rozwojowi organizmów zdolnych przeprowadzać procesy nityfikacyjne.

Mikoryzowe korzenie sosny pobierają znacznie więcej azotu niż korzenie bez mikoryz.

W wielokrotnie tu już wspomnianym doświadczeniu HATCHA (1937), siewki sosny z mikoryzą zakumulowały dwa razy więcej azotu niż korzenie niemikoryzowe (tab. 5.7). HÖBERG (1988) podaje, że mikoryzowy korzeń sosny (mikoryza z grzybem *Pisolithus*

*arhizus*) pobiera w ciągu dnia 0,48 µg azotu, podczas gdy korzeń bez mikoryzy tylko 0,16 µg. MELIN i NILSSON (1952; 1953) jako pierwsi przedstawili transport znakowanego azotu przez mufkę grzybniową *Suillus variegatus* do tkanek *P. sylvestris*.

Niezależnie od tego, że w kwaśnych glebach leśnych dostępność azotanów jest raczej niewielka, jon amonowy jest w większym stopniu absorbowany przez ektomikoryzy sosny niż jon azotanowy (BOXMAN i ROELOFS 1988). FRANCE (1980) oraz FRANCE i REID (1979) wykazali, że potencjał absorpcyjny sosny dla azotanu jest o 30-50% niższy niż dla amonu. Należy podkreślić, że doświadczenia te wykonano w większości na odciętych mikoryzach sosny, gdzie stosunki mogą kształtować się nieco inaczej niż na roślinach całych. Dopiero w 1988 r. FINLAY i wsp. przedstawili dane dotyczące pobierania i asymilacji znakowanego azotu z jonu amonowego do wolnych aminokwasów przez mikoryzy *P. sylvestris*. Mycelium i mufka grzybniowa utworzona przez *Rhizopogon roseolus*, *Suillus bovinus* i *Pisolithus tinctorius* zakumulowały znaczne ilości znakowanego <sup>15</sup>N w kompleksie glutaminian/asparagina, asparaginian/asparagina i w alanie. Również inne aminokwasy (seryna, treonina, tyrosyna, lizyna, ornityna i arginina) wykazywały pewien stopień radioaktywności. Wyniki te sugerują, że azot może być włączany przez mycelium grzybów mikoryzowych do szeregu aminokwasów, a następnie w tej formie transportowany przez mufkę grzybniową i sieć HARTIGA do komórek korzenia, gdzie ma miejsce absorpcja i przekazywanie azotowych związków organicznych do części nadziemnej. Stwierdzono, że 5-50% aminokwasów w części nadziemnej było znakowanych <sup>15</sup>N, czyli pochodziło z pobrania poprzez mikoryzy tworzone przez poszczególne grzyby.

W ektomikoryzie sosny szlaki metabolizmu azotu nie zostały dotąd wyjaśnione, choć oba cykle, GS/GOGAT i GDH (patrz rozdz. 5.5.4.2) mogą być potencjalnie aktywne. Na ektomikoryzy składają się bowiem zarówno komórki grzybów, w których czynny jest szlak GDH, jak i GS/GOGAT, a w korzeniach roślin wyższych szlak GS/GOGAT jest główną drogą asymilacji jonu amonowego (MIFLIN i in. 1981).

Ektomikoryzy mogą także ułatwić pobieranie organicznych składników azotowych zawartych w glebach leśnych (CHALOT i in. 1988). ABUZINDAH i READ (1986a; 1986b) wykazali, że o ile niemikoryzowe siewki sosny niezdolne były do wykorzystywania białka jako źródła azotu, o tyle w mikoryzie z *Hebeloma crustuliniforme* łatwo wykorzystywały

azot białkowy, wykazując przy tym znaczny wzrost części nadziemnej.

### 5.5.6.1.3. Absorpcja wody

Ektomikoryzy nie tylko zaopatrują drzewo w szereg składników odżywczych, ale także spełniają ważne zadanie w pobieraniu oraz przewodzeniu wody. Głównym szlakiem transportu wody z gleby są sznury grzybniowe (patrz rozdz. 5.5.3.5). Sznury grzybniowe *Suillus bovinus* zdolne były do przekazywania znakowanej wody  $^3\text{H}_2\text{O}$  do mikoryz na korzeniach *P. sylvestris* (READ i MALIBARI 1979; DUDDRIDGE i in. 1980). Przepływ wody przez najdalsze rozgałęzienia mycelium wchodzącego w skład mikoryzowych sznurów grzybniowych odbywa się poprzez „naczynia” strzępek grzybniowych, apoplast mufki do komórek kory pierwotnej korzenia. Ponieważ jednocześnie poprzez cytoplazmę zewnętrznych strzępek sznurów grzybniowych odbywa się ruch asymilatów do symbionta grzybowego, przyjmuje się, że jest to sytuacja analogiczna do obserwowanej we floemie i ksylemie roślin wyższych, a system mikoryzowych sznurów grzybniowych tak funkcjonalnie, jak i strukturalnie przypomina system korzeniowy roślin (BROWNLEE i in. 1983). Ma to szczególne znaczenie w przypadku takich właśnie roślin jak sosna, której system korzeniowy jest stosunkowo słabo rozgałęziony w porównaniu np. z trawami czy innymi roślinami zielnymi. Według LOBANOWA (1960) stosunek powierzchni absorpcyjnej korzeni do powierzchni transpirującej części nadziemnej wynosi u sosny, bez uwzględnienia ektomikoryz, 0,33:1, gdy np. u żyta 140:1.

Dane te wskazują, jak ważną rolę spełniają ektomikoryzy, a mikoryzowe sznury grzybniowe w szczególności w zwiększaniu powierzchni absorpcyjnej korzeni sosny. Wykazano np., że w 45 minut po przerwaniu sznurów grzybniowych łączących siewki *P. sylvestris* z grzybnią *Suillus bovinus* nastąpiło obniżenie transpiracji o 40% oraz zahamowanie fotosyntezy o 30% (BOYD i in. 1986). Związane to jest ze zwiększeniem tzw. oporu liścia „r1” (KOROHODA 1977). Jest to wartość, która charakteryzuje stopień utrudnienia dyfuzji cząsteczek  $\text{H}_2\text{O}$  z liści, w tym przypadku z igieł. Wartość ta

wyniosła dla siewek sosny pozostających w funkcjonalnym połączeniu z grzybnią *Suillus bovinus* 13, a po przecięciu sznurów grzybniowych wzrosła do 35. Taka szybka reakcja na przerwanie łączności między grzybem a rośliną potwierdza istnienie bardzo ścisłej zależności pomiędzy dostarczeniem wody przez grzyba i utrzymaniem turgoru komórek gospodarza (BOYD i in. 1986).

### 5.5.6.2. WPLYW SYMBIOZY MIKORYZOWEJ NA ZWIĘKSZENIE ODPORNOŚCI KORZENI SOSNY NA CZYNNIKI CHOROBOTWÓRCZE

Grzyby mikoryzowe stanowią ważny składnik populacji mikroorganizmów zasiedlających ryzosferę, a dzięki specyficznym właściwościom włączone są w procesy antagonizmu biologicznego, zapobiegania chorobom, a nawet eliminacji pewnych organizmów chorobotwórczych. Niekiedy podkreśla się, że rola ektomikoryz w ochronie systemu korzeniowego drzewa przed atakiem patogenów jest jej podstawową rolą ekologiczną przewyższającą nawet pod względem znaczenia efekt zwiększania powierzchni chłonnej systemu korzeniowego.

ZAK (1964) i MARX (1972) przedstawili kilka mechanizmów, poprzez które grzyby mikoryzowe mogą chronić korzenie przed patogenami. Są to: fizyczna bariera mufki grzybniowej, konkurencja z patogenami o pokarmy (np. cukry wydzielane przez korzenie) i sprzyjanie rozwojowi antagonistycznej mikroflory związanej z mufką grzybniową. Ektomikoryzy chronią także skutecznie przed patogenami poprzez antybiotyki wydzielane przez symbionta grzybowego, bądź poprzez pobudzanie komórek gospodarza do produkcji i wydzielania substancji (fenoli, fitoaleksyn), które mogą hamować wzrost lub nawet zabijać potencjalnego patogena. Spośród 16 testowanych grzybów ektomikoryzowych w teście *in vitro*, siedem powodowało znaczne zahamowanie wzrostu 20 różnych grzybów pasożytniczych (KOPE i FORTIN 1989). Do najaktywniejszych grzybów mikoryzowych autorzy zaliczyli *Tricholoma pessundatum* i *Pisolithus tinctorius*. Ich metabolity wydzielane do pożywki powodowały zmiany w morfologii badanych patogenów, polegające na zwiększonym rozgałęzianiu się strzępek,

nabrzmiwaniu komórek, zwiększeniu liczby przegród w strzępkach oraz oznakach rozpuszczania komórek patogena.

Szereg grzybów ektomikoryzowych okazało się bardzo skutecznych w ochronie systemu korzeniowego sosny przed patogenami powodującymi zgorzel i zgniliznę korzeniową młodych siewek w szkółkach (SCHWERDT-FEGER 1981). Groźny patogen *Phytophthora cinnamomi* był efektywnie hamowany w rozwoju przez ektomikoryzowe grzyby *Pisolithus tinctorius* na siewkach *P. echinata* i *P. taeda* (MARX 1970), przez *Cenococcum graniforme* na *P. clausa* (ROSS i MARX 1972), a przez *Thelephora terrestris* na *P. echinata* (MARX 1973). Na siewkach *P. sylvestris* wykazano skuteczne działanie ektomikoryzowych grzybów *Laccaria laccata* i *Hebeloma crustuliniforme* przeciwko patogenom *Fusarium oxysporum* (CHAKRAVARTY i UNESTAM 1986) oraz *Pythium* sp. i *Rhizoctonia* sp. (PERRIN i NOUVEAU 1986; CHAKRAVARTY i UNESTAM 1987a). Większość typowych symbiontów ektomikoryzowych *P. sylvestris* (RUDAWSKA 1990) wykazywała w teście *in vitro* silny antagonizm w stosunku do patogena *Rhizoctonia solani* (z wyjątkiem *Rhizopogon luteolus* i *Amanita citrina*) i nieco słabszy w stosunku do *Fusarium* sp., a szczepy ektomikoryzowego symbionta sosny *Paxillus involutus* skutecznie hamowały wzrost patogena *Rhizoctonia solani*. W doświadczeniu szklarniowym z siewkami *P. sylvestris* zaszczepionymi grzybem *P. involutus* uzyskano bardzo silne ograniczenia rozwoju choroby, wywołanej przez patogeny z rodzaju *Fusarium* sp. i *Rhizoctonia* sp. (RUDAWSKA 1990). Śmiertelność siewek, jak i rozwój choroby powodowanej przez oba patogeny zostały znacznie ograniczone nawet przed nawiązaniem przez korzenie syntezy mikoryzowej. Prawdopodobnie metabolity produkowane przez grzyba symbiotycznego oraz syntetyzowane w korzeniach siewek sosny skutecznie hamują rozwój patogenów. Podobne działanie uzyskano pomiędzy symbiontem *Paxillus involutus* a patogenem korzeniowym *Fusarium oxysporum* na siewkach *P. resinosa* (DUCHESNE i in. 1988; 1989). Oprócz zwiększenia odporności siewek sosny o 47% stwierdzono

także zmniejszenie produkcji zarodników przez patogena *Fusarium oxysporum*. Ekstrakcja antybiotyków z rizosfery oraz tkanek sosny wykazała, że większość aktywności antybiotykowej zlokalizowana jest w rizosferze siewek zaszczepionych grzybem *Paxillus involutus*. Wspomniane doświadczenia pokazują, że ogromną rolę w ochronie systemu korzeniowego siewek sosny przed patogenami mogą spełniać grzyby mikoryzowe, nawet poprzez samą obecność w rizosferze, jeszcze przed nawiązaniem właściwego kontaktu symbiotycznego. Takie wyniki badań pozwalają obecnie inaczej spojrzeć na liczne, wcześniejsze doniesienia o nieudanych próbach wprowadzenia sosny na tereny, gdzie nie była ona nigdy wcześniej uprawiana, i gdzie brak było w glebie odpowiednich

Tabela 5.8

Antagonizm ektomikoryzowych symbiontów *Pinus sylvestris* w stosunku do patogenów zgorzelowych *Rhizoctonia solani* i *Fusarium* sp. w teście *in vitro* (wg RUDAWSKIEJ 1990)

Grzyby ektomikoryzowe	Testowane patogeny	
	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Rhizoctonia solani</i>
<i>Suillus granulatus</i>	-	+++
<i>Suillus bovinus</i> 1.	+	+
<i>Suillus bovinus</i> 2.	-	+
<i>Rhizopogon luteolus</i>	+	-
<i>Pisolithus tinctorius</i>	+	+++
<i>Amanita citrina</i>	-	-
<i>Amanita rubescens</i>	-	+
MrgX-szczep ektendomikoryzowy	-	+++
<i>Paxillus involutus</i> 2.	+	+++
<i>P. involutus</i> 3.	+	+++
<i>P. involutus</i> 4.	+	+
<i>P. involutus</i> 5.	+	+
<i>P. involutus</i> 6.	-	+++
<i>P. involutus</i> 7.	-	+++
<i>P. involutus</i> 8.	+	+

Antagonizm: silny +++, średni ++, słaby +, brak antagonizmu -

Tabela 5.9

Niektóre lotne substancje organiczne zawarte w ekstraktach z mikoryzowych (*Boletus variegatus*) i niemikoryzowych korzeni *Pinus sylvestris* z kultury *in vitro* (wg KRUPA i FRIES 1971)

Substancje lotne	Liczba (w jednostkach względnych)	
	korzenie	
	niemikoryzowe	mikoryzowe
λ-pinen	270	780
3-carenen	290	1200
β-phellandren	5	18
γ-terpinen	1	8
Terpinolen	30	122

grzybów ektomikoryzowych. Poza tym, że status odżywczy takich siewek na skutek braku wspomagania przez mikoryzy był na pewno słabszy, to ich system korzeniowy, nie chroniony przez symbionty grzybowe i ich metabolity, ulegał infekcji przez liczne patogeny i siewki takie masowo ginęły (MIKOŁA 1970; 1973; MARX 1980a; 1980b).

W efekcie infekcji mikoryzowej również w tkankach rośliny gospodarza dochodzi do syntezy substancji toksycznych dla pasożytniczych grzybów korzeniowych. KRUPA i FRIES (1971) stwierdzili, że siewki *P. sylvestris* w mikoryzie z grzybem *Boletus (Suillus) variegatus* produkowały 2-8 razy więcej lotnych substancji terpenowych niż siewki rosnące bez mikoryz (tab. 5.9). Substancje te skutecznie hamowały wzrost patogenów *Phytophthora cinnamomi* i *Fomes annosus*. Wykazano także podwyższenie poziomu substancji fenolowych w korzeniach sosny w wyniku infekcji ektomikoryzowej grzybami *Laccaria laccata*, *Pisolithus tinctorius* i *Hebeloma crustuliniforme* (CHAKRAVARTY i UNESTAM 1986; 1987a), przy jednoczesnej poprawie zdrowotności siewek i zmniejszeniu symptomów chorobowych powodowanych przez *Fusarium* sp. i *Rhizoctonia* sp.

Ektomikoryzy podnoszą także odporność drzew na szereg czynników abiotycznych, takich jak mróz, susza i wysokie temperatury (HARLEY 1959). Choć pod względem wytrzymałości na brak wody grzyby ektomikoryzo-

we różnią się znacznie między sobą (UHLIG 1972; BOWEN 1973; REID 1979), to ektomikoryzy zawsze były bardziej odporne na odwodnienie niż korzenie bez mikoryz (CROMER 1935). Na przykład czarne mikoryzy tworzone przez *Cenococcum graniforme* są wyjątkowo odporne na suszę (WORLEY i HACSKAYLO 1959). Biorąc pod uwagę skomplikowany system sznurów grzybniovych wraz z jego szczególnym przystosowaniem do przewodzenia wody (patrz rozdz. 5.5.3.5), zwiększona odporność na suszę roślin z mikoryzą wydaje się oczywista. Wymowne jest to, że korzenie sosny z ektomikoryzą wznawiają swój wzrost już w 3 dni po ustąpieniu stresu wodnego, podczas gdy w przypadku korzeni niemikoryzowych następuje to dopiero po 14 dniach (CROMER 1935).

#### 5.5.7. FUNKCJONOWANIE EKTOMIKORYZ SOSNY

Dwie klasyczne teorie, węglowodanowa i hormonalna, próbują wyjaśnić, jakie procesy regulują tworzenie ektomikoryz. Węglowodanowa teoria sformułowana przez BJÖRKMANA w 1942 r. postuluje, że zasadniczym czynnikiem powstawania mikoryzy jest odpowiednia zawartość rozpuszczalnych cukrów w korzeniach, która z kolei zależy od zaopatrzenia rośliny w pokarmy mineralne oraz od warunków świetlnych. Hormonalna teoria budowana przez SLANKISA przez wiele lat i podsumowana w 1973 r. zakłada, że kluczową substancją regulującą powstawanie ektomikoryz jest auksyna pochodzenia grzybowego, która wpływa na poziom węglowodanów w korzeniach. Synteza auksyny jest uzależniona z kolei od żywienia mineralnego. Na obie te teorie nakłada się jeszcze jedna, chyba najstarsza, choć nie tak wyraziście artykułowana jak dwie poprzednie, a mianowicie teoria mineralna (STAHL 1900; HATCH 1937), której zwolennicy uważają, że mikoryza jest zjawiskiem typowym dla gleb ubogich w składniki mineralne i przez nie regulowana.

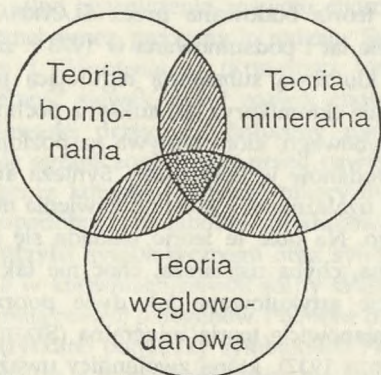
Zamiast wyjaśnić tworzenie mikoryz jako funkcję takiego czy innego czynnika HACSKAYLO (1969), a następnie NYLUND (1988), przedstawili kompleks interakcji mających miejsce podczas tworzenia i funkcjonowania mikoryz. Po wejściu w kontakt z korzeniem, grzyb modyfikuje wzrost korzenia poprzez uwalnianie metabolity, wśród których może być auksyna, ale także inne regulatory wzrostu (cytokiny, gibbereliny, etylen). W konsekwencji więcej węglowodanów jest kierowanych do korzenia, między innymi jako rezultat działania hormonów grzybowych. Następuje rozrost grzybni, tworzenie mufki i sieci HARTIGA, uzależnione jednak od dostępności pokarmów mineralnych. Taka koncepcja funkcjonowania mikoryz, choć uproszczona, zawiera kilka możliwych interakcji fizjologicznych. Na podstawie późniejszych prac okazało się jednak, że niemal każda zaproponowana hipoteza ma pewne słabe punkty, bądź może być znacznie poszerzona. Stwierdzono, że o ile mikoryza wycofuje się stopniowo z siewek mikoryzowych sosny pod wpływem rosnącego stężenia azotu, to forma azotu ma wpływ znacznie silniejszy: azotan redukuje mikoryz na rocznych siewkach sosny w stopniu o wiele większym, niż nawet wysokie stężenia jonów amonowych i mocznika (RUDAWSKA 1986a). Z kolei następne doświadczenia (KÄHR i AVERBY 1986; WALLANDER i NYLUND 1991) wykazały, że mikoryza *P. sylvestris* może się rozwijać nawet w sytuacji, kiedy rośliny nie znajdują się w warunkach niedoboru azotu i fosforu, co przeczy założeniom teorii mineralnej i węglowodanowej. Ostatnie doniesienia dostarczają danych przemawiających raczej za teorią hormonalną. UNESTAM i STENSTRÖM (1989) wykazali, że traktowanie korzeni sosny preparatami auksyny (IAA) powoduje zwiększoną produkcję mikoryz. Z kolei GAY i wsp.

(1991) stwierdzili, że mutant grzyba mikoryzowego *Hebeloma cylindrosporum*, odznaczający się podwyższoną produkcją IAA, tworzy obfitsze mikoryzy z grubą mufką grzybniową i rozbudowaną siecią HARTIGA. WALLANDER i NYLUND (1991) na ostatniej Europejskiej Konferencji Mikoryzowej w Sheffield odnieśli się krytycznie także do teorii SLANKISA, nazywając ją tylko hipotezą, gdyż uznali, że jej autor nigdy tej teorii doświadczalnie nie udowodnił. Oparli oni swoją krytykę na doświadczeniach, w których wykazali, że siewki *P. sylvestris* z mikoryzą miały niższą zawartość auksyny, niż analogiczne siewki bez mikoryz (WALLANDER i in. 1992). Mimo wszystko wydaje się, że auksyna grzybowa odgrywa ważną rolę regulacyjną w mikoryzie, spełniając jednak zasadnicze zadanie przede wszystkim na etapie formowania organów mikoryzowych, kiedy może wpływać aktywnie na enzymy hydrolityczne korzenia. Być może nieco mniejszą rolę spełnia w trakcie funkcjonowania w pełni już ukształtowanych mikoryz (TOMASZEWSKI i WOJCIECHOWSKA 1974; KIELISZEWSKA i RUDAWSKA, dane niepublikowane).

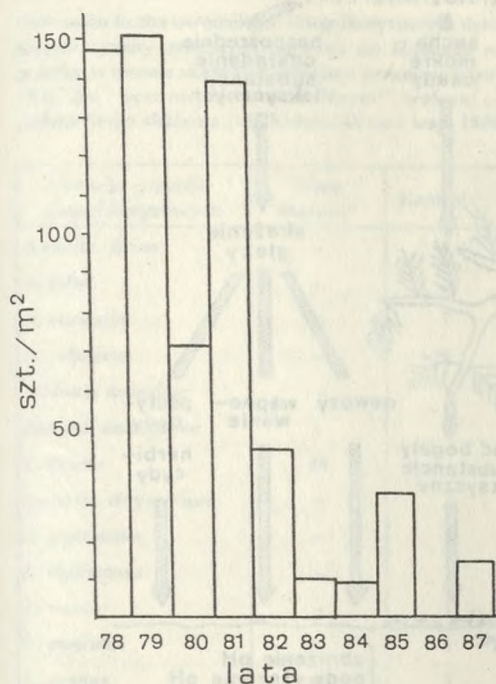
W ostatnich latach wszystkie trzy teorie zostały poddane krytycznej analizie (NYLUND 1988). Najprawdopodobniej w każdej z nich jest trochę racji i dlatego najbliższej prawdy znajduje się model interakcji zaproponowany przez HACSKAYLO (1971) i podjęty przez GOGALĘ (1991), wskazujący na nakładanie się założeń wszystkich trzech istniejących teorii regulacji tworzenia mikoryz (ryc. 5.38).

#### 5.5.8. MIKORYZA A SKAŻENIE ŚRODOWISKA

Zamieranie lasów obserwuje się w ostatniej dekadzie w Europie środkowej i w ogóle na półkuli północnej. Jako przyczynę podaje się nadmierne zanieczyszczenie pyłami i gazami emitowanymi przez zakłady przemysłowe. Zamieraniu ulegają przede wszystkim drzewa i drzewostany iglaste, w tym sosna (KAMIŃSKI 1987). Uważa się, że drzewa obligatoryjnie ektomikoryzowe, do których należy sosna zwyczajna, są wrażliwsze na różne stresy środowiska, niż drzewa bez ektomikoryz lub z ektomikoryzą fakultatywną, jak np. *Sorbus aucuparia*, *Robinia pseudoacacia*, gatunki z rodzaju *Salix* i *Alnus* (MEYER 1987b). Wynikać to może z tego, że obecność ektomikoryz u drzew obligatoryjnie mikoryzowych ma pierwszorzędne znaczenie dla ich prawd-



Ryc. 5.38. Nakładanie się zakresów trzech głównych teorii regulacji tworzenia mikoryz (wg GOGALA 1991)



Ryc. 5.39. Występowanie owocników grzyba *Cantharellus cibarius* – pieprznik jadalny (w szt./m<sup>2</sup>) na poletku skażonym gazami przemysłowymi (SO<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub>, NH<sub>3</sub>) w Holandii w latach 1978-1988 (wg JANSEN 1988)

wego funkcjonowania i zdrowotności, w tym tak ważnych procesów, jak odżywianie mineralne, pobieranie wody, odporność na suszę, inwazję patogenów, a także tolerancję na obecność metali ciężkich w glebie (MARX i SCHENCK 1983; MEJSTRIK 1987). Tymczasem postępujące skażenie środowiska dotknęło swoimi skutkami również mikoryzy i grzyby mikoryzowe. **Zamieranie mikoryz na korzeniach wydaje się mieć przyczynowy związek z zamieraniem lasów** (MEYER 1984). Uważa się nawet, że symbioza ektotroficzna jest bardzo czułym bioindykatorem skażenia powietrza (DÖRFELT i BRAUN 1980; MEJSTRIK 1980; FELNER 1989). Na podstawie obecności lub braku na korzeniach ektomikoryz utworzonych przez gatunki typowe dla danego drzewa, można wnioskować o stopniu skażenia powietrza. Dla starszych drzewostanów sosnowych takim gatunkiem wskaźnikowym

może być symbiont *Cantharellus cibarius* (pieprznik jadalny – kurka). Spadek występowania owocników tego grzyba w ciągu wielu lat postępującego skażenia środowiska w Holandii, przedstawiono na rycinie 5.39.

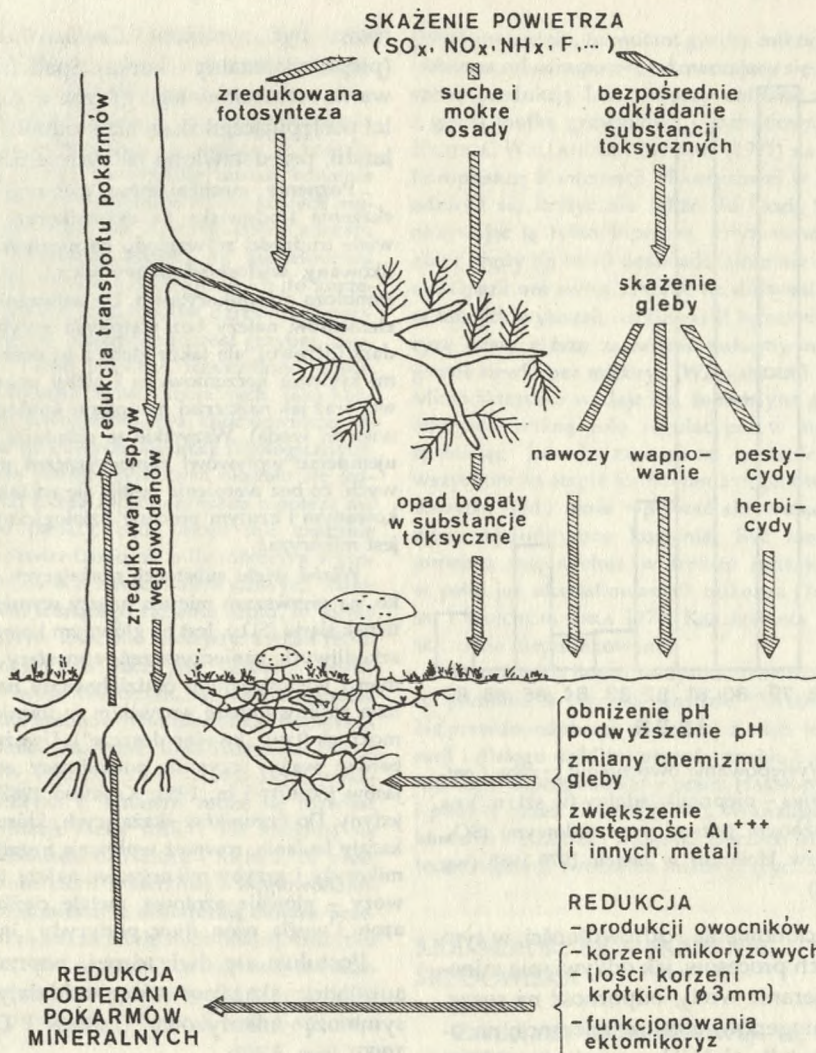
Poznanie mechanizmów ujemnego wpływu skażenia środowiska na ektomikoryzę nastrocza wiele trudności ze względu na niezwykle skomplikowany, wieloskładnikowy układ, jaki stanowi symbioza ektomikoryzowa. Do najważniejszych jej elementów należy bez wątpienia grzyb i gospodarz (drzewo), ale także gleba z jej drobnoustrojami systemu korzeniowego i gleby pozakorzeniowej oraz jak najszerzej rozumiane środowisko (powietrze, woda). Wszystkie te składniki podlegają ujemnemu wpływowi zanieczyszczeń przemysłowych, co bez wątpienia odbija się na tak skomplikowanym i czułym procesie fizjologicznym, jakim jest mikoryza.

Wśród wielu substancji skażających środowisko, na pierwszym miejscu należy wymienić dwutlenek siarki (SO<sub>2</sub>). Jest on głównym komponentem szkodliwych zanieczyszczeń atmosfery o złożonym i wielostronnym oddziaływaniu na metabolizm rośliny, przede wszystkim w formie osadów mokrych (tzw. „kwaśne deszcze”). Uważa się je za bardzo ważny czynnik powodujący zamieranie lasów (SCHÜTT i in. 1983; KAMIŃSKI 1987), ale nie jedyny. Do czynników skażających, które, jak wykazały badania, również wpływają negatywnie na mikoryzy i grzyby mikoryzowe należą także: nawozy – głównie azotowe, metale ciężkie, tlenki azotu i węgla, ozon, fluor, pestycydy i inne.

Postuluje się dwie drogi, poprzez które substancje skażające mogą oddziaływać na symbiozę mikoryzową (JANSEN i DIGHTON 1990) (ryc. 5.40):

1. Działanie za pośrednictwem gleby, na które składa się zwiększenie, a niekiedy obniżenie kwasowości roztworu glebowego, wzrost stężenia jonów glinu (Al<sup>3+</sup>) przy obniżeniu pH gleby i w związku z tym zmiana stosunku Al:Ca i Al:Mg czy też bezpośredni ujemny wpływ azotu, metali ciężkich lub pestycydów na wzrost grzybni ektomikoryzowej.

2. Działanie za pośrednictwem drzewa, dotyczące głównie wpływu substancji skażających na zahamowanie procesów fotosyntezy i zwiększenie oddychania i związane z tym ograniczenie transportu węglowodanów do korzeni i grzybów mikoryzowych.



Ryc. 5.40. Schemat przedstawiający dwie możliwe drogi przez które środowisko wpływa na funkcjonowanie mikoryz (wg JANSEN i DIGHTON 1990)

Konsekwencją jest redukcja liczby mikoryz i produkcji owocników.

Rodzi się więc pytanie: czy ektomikoryzy zanikają, ponieważ skażona gleba stanowi niekorzystne środowisko dla ich rozwoju, czy też dlatego, że choruje drzewo? Innymi słowy: czy niekorzystny wpływ na mikoryzy spowodowany jest chemicznymi zmianami w glebie, czy też zredukowanym dopływem cukrów?

Niezależnie od przyjętej koncepcji można założyć, że skażone środowisko ujemnie

wpływa na mikoryzy, które słabiej odżywiają i mniej skutecznie chronią drzewo przed patogenami. To z kolei prowadzi do ograniczenia wzrostu drzew, ich osłabienia, a w konsekwencji do zamierania lasów. Tak w każdym razie stanowi wielce prawdopodobna teoria opadającej spirali życiowej przedstawiona przez PERSSONA (1988).

Pominięto w niniejszych rozważaniach szczegółowy opis ujemnego wpływu skażenia środowiska na procesy fizjologiczne i metabolizm sosny, gdyż z problemem tym może zapoznać się czytelnik w rozdziale 5.7 tej książki, a także ze zbiorowej



Tabela 5.10

Calkowita liczba owocników ektomikoryzowych symbiontów sosny zebranych od maja do listopada na poletku w terenie skażonym emisjami przemysłowymi (SO<sub>2</sub>, Zn) \* oraz na poletku kontrolnym\*\*, wolnym od nadmiernego skażenia (wg KOWALSKIEGO i wsp. 1989)

Gatunki grzybów ektomikoryzowych	Teren skażony*	Kontrola**
<i>Amanita citrina</i>	–	6
<i>A. fulva</i>	–	3
<i>A. muscaria</i>	–	7
<i>A. rubescens</i>	–	1
<i>Hydnum repandum</i>	–	1
<i>Laccaria amethystina</i>	–	9
<i>L. laccata</i>	46	–
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	–	2
<i>L. glycosmus</i>	–	1
<i>L. mytilissimus</i>	–	7
<i>L. necator</i>	–	3
<i>L. piperatus</i>	–	1
<i>L. quietus</i>	–	2
<i>L. rufus</i>	–	11
<i>L. vellereus</i>	–	28
<i>L. volemus</i>	–	9
<i>Lycoperdon perlatum</i>	–	8
<i>L. umbrinum</i>	–	1
<i>Paxillus involutus</i>	–	8
<i>Russula emetica</i>	–	1
<i>R. fragilis</i>	–	1
<i>R. lutea</i>	–	1
<i>R. ochroleuca</i>	–	3
<i>R. puellaris</i>	–	2
<i>R. xerampelina</i>	–	2
<i>Scleroderma citrinum</i>	–	3
<i>Suillus bovinus</i>	3	–
<i>S. grevillei</i>	–	7
<i>S. luteus</i>	10	–
<i>Thelephora terrestris</i>	2	–
<i>Tricholoma imbricatum</i>	1	–
<i>Xerocomus subtomentosus</i>	–	1
<i>X. badius</i>	–	3

\* 11-letnia *Pinus sylvestris* + *Betula pendula*

\*\* 18-letnia *P. sylvestris*

pracy wydanej przez Instytut Dendrologii PAN pt. „Życie drzew w skażonym środowisku” (BIAŁOBOK 1989). Ograniczono się jedynie do zasygnalizowania wpływu skażenia środowiska na fotosyntezę, która ma bezpośrednie powiązanie z tworzeniem mikoryz. Wykazano na przykład, że u sosny zwyczajnej pod wpływem SO<sub>2</sub> występuje zahamowanie fotosyntezy, nadmierne gromadzenie w igłach sacharozy i rafinozy oraz obniżenie poziomu skrobi (LORENC-PLUCIŃSKA 1989). Dalszą konsekwencją, którą łatwo przewidzieć, jest niedostateczny przepływ cukrów z igieł do korzeni, co prowadzi do zaburzeń w funkcjonowaniu korzeni i całej rośliny. Odbija się to także na egzystencji grzybów ektomikoryzowych, które są od cukrów gospodarza bezwzględnie zależne. Dlatego w warunkach zredukowanej fotosyntezy powstawanie ektomikoryz ulega ograniczeniu (MEYER 1987a).

W wyniku rozregulowania metabolizmu rośliny przez różne substancje skażające, następuje ogólne obniżenie vitalności drzew, zanikanie włośników i karlenie systemu korzeniowego (BLASCHKE i in. 1985). Tymczasem ektomikoryzy mogą się tworzyć tylko na młodych, rosnących korzeniach (o średnicy poniżej 3 mm). W lasach zamierających (zw. indeks rozgałęzienia korzeni (liczba wierzchołków korzeniowych na centymetr długości korzenia) jest silnie zredukowany w stosunku do korzeni z terenów niezanieczyszczonych (MEYER 1987b). Generalnie, wszystkie czynniki, które hamują tworzenie nowych korzeni, automatycznie redukują tworzenie ektomikoryz. MEYER (1987b) wskazuje, że osłabienie systemu korzeniowego, a wraz z nim zmniejszenie liczby mikoryz pociąga za sobą szereg dalszych skutków:

1) drzewa stają się wrażliwsze na wiatry w związku ze słabszym zakorzeniem w glebie,

2) zwiększa się ogólna wrażliwość drzew na pasożyty korzeniowe, np. w zamierających lasach obserwuje się często inwazję opieńki miodowej (ochronna rola mikoryz przed patogenami uważana jest za jedną z najważniejszych funkcji ekologicznych ektomikoryz),

3) drzewa stają się wrażliwsze na suszę, gdyż odpowiednio mniej korzeni i mikoryz dostarcza mniej wody do części nadziemnej,

4) redukcja liczby wierzchołków korzeniowych, będących centrami syntezy takich hormonów jak cytokiny i gibereliny (SKENE 1975) wpływa ujemnie na status hormonalny całej rośliny.

Jak wspomniano już wcześniej, obecność ektomikoryz na korzeniach drzew czy też pojawienie się owocników grzybów ektomikoryzowych jako bezpośredni przejaw obec-

Tabela 5.11

Występowanie mikoryz na korzeniach sosny (*Pinus sylvestris*), rosnącej na powierzchni skażonej emisjami przemysłowymi (SO<sub>2</sub>, Zn) oraz z terenów kontrolnych, wolnych od nadmiernego skażenia (wg KOWALSKIEGO i wsp. 1989)

Podtypy mikoryz (wg DOMINIKA 1969)	Teren skażony [%]	Kontrola [%]
A	17,7	12,4
B	–	8,1
C	5,4	3,3
F	0,2	14,8
G	2,4	7,6
H	–	1,3
Ektendomikoryzy	0,9	–
Procent żywych mikoryz	27,3	48,4

ności mikoryz na korzeniach może być bardzo czułym bioindykatorem skażenia powietrza na danym terenie. **Zarówno w całej Europie, jak i w Polsce obfitość grzybów ektomikoryzowych ulega systematycznemu zmniejszeniu** (WOJEWODA i ŁAWRYNOWICZ 1986; WOJEWODA 1992).

Jeszcze 18 lat temu PACHLEWSKI i PACHLEWSKA (1974) podawali 76 gatunków grzybów ektomikoryzowych ze stanowiska sosny zwyczajnej w Wielkopolskim Parku Narodowym. W 1989 r. KOWALSKI i wsp. z podobnego w charakterze stanowiska, podają już tylko 33 gatunki (tab. 5.10). Owo zanikanie niektórych gatunków grzybów przypisuje się w Polsce częściowo intensywnemu zbieraniu owocników grzybów jadalnych jesienią, chociaż zanika także wiele gatunków trujących, które nie są zbierane (WOJEWODA i ŁAWRYNOWICZ 1986).

Badania, prowadzone w silnie uprzemysłowionych regionach Górnego Śląska oraz Krakowskiego Okręgu Przemysłowego wykazały wyraźną negatywną korelację pomiędzy poziomem skażenia przemysłowego a ilościowym i jakościowym składem mikoryz na młodych sosnach (8-10 lat), wysadzanych

obok innych gatunków na miejscach zamierzających drzewostanów iglastych (DOMAŃSKI in. 1984; KOWALSKI 1987; KOWALSKI in. 1989). Z obserwacji tych wynika, że u sosny z terenów zdegradowanych dominuje prymitywny i mało funkcjonalny typ mikoryz Aa oraz dający czarne mikoryzy typ Ga, tworzony przez symbionta *Cenococcum graniforme*. Wyraźnym odchyleniem od normy na terenach silnie skażonych (III strefa skażenia), jest u sosny obecność mikoryz ektendotroficznych, wskazująca jak gdyby na skłonność do przechodzenia grzyba mikoryzowego do pasożytniczego trybu życia, bądź dominacji grzybów ektendomikoryzowych. Udział żywych mikoryz u sosny zwyczajnej w II strefie skażenia wyniósł około 20%, a w III strefie poniżej 10% w stosunku do 70% w I strefie, uważanej za średnio skażoną. Poza tym mikoryzy ze strefy II i III były w większości dość prymitywne, z fragmentaryczną opilśnią lub nawet jej pozbawione, komórki kory pierwotnej w zasięgu działania grzyba ektomikoryzowego były zbrązowiałe, a mikoryzy szybko zamierające. Bardzo często mikoryzy zmarłe, bądź wierzchołki jeszcze żywych mikoryz, bywają pokryte częściowo przez grzybnie *Mycelium radialis atrovirens* (KOWALSKI 1987). W innym silnie zanieczyszczonym pyłami przemysłowymi (Al, Zn, Cd) zbiorowisku leśnym *Pino-Quercetum*, niedaleko Niepołomic, zaobserwowano u sosny drastyczne zwiększenie śmiertelności mikoryz (TURNAU 1989).

Szczegółową analizę gatunków grzybów oraz typów mikoryz, składających się na mikoryzę tworzoną przez sosnę w terenach skażonych, przedstawiono w tabelach 5.10 i 5.11.

#### 5.5.8.1. WPŁYW GAZOWYCH ZANIECZYSZCZEŃ POWIETRZA NA GRZYBY MIKORYZOWE I MIKORYZY

Bezpośredni wpływ gazowych emisji przemysłowych na ektomikoryzę jest raczej niewielki. Wynika to z faktu, że większość tych skażeń to tlenki siarki, azotu czy amoniak, które w szybkim czasie są przekształcane w fazę ciekłą i dopiero jako takie czynią spustoszenie w środowisku glebowym. Na

korzenie i grzyby ektomikoryzowe oddziałują więc raczej pośrednio przez zmianę pH gleby niż bezpośrednio przez wzrost stężenia gazu. Podobnie, mało prawdopodobny jest bezpośredni wpływ ozonu ( $O_3$ ) na korzenie – może z wyjątkiem małej części korzeni mikoryzowych czy grzybni pozostającej w górnej warstwie ściółki.

Niewiele wykonano doświadczeń nad bezpośrednim wpływem gazów na funkcjonowanie mikoryz. Ozon nie wpływał na mikoryzy sosny, kiedy rośliny poddawano przez 4 miesiące działaniu tego gazu ( $0,14\text{ppm}$ ) 3 razy w tygodniu. Istotny spadek mikoryz zaobserwowano natomiast, kiedy stosowano ozon 5 razy w tygodniu (STROO i in. 1988). Często uważa się, że istnieje interakcja pomiędzy ozonem i kwaśnymi deszczami, a w doświadczeniach stosuje się oba te czynniki jednocześnie (CARNEY i in. 1978; GARRET i in. 1982; MC COOL i MENGE 1983). Tak  $O_3$  jak i  $SO_2$  znane są z tego, że redukują translokację fotoasymilatów z igieł do korzeni (AMUNDSON i in. 1986). Siewki z mikoryzą traktowane  $SO_2$  i  $O_3$  nie wykazywały zahamowania rozwoju systemu korzeniowego, co sugeruje, że grzyb symbiotyczny (*Pisolithus tinctorius*) jest zdolny znacznie zmodyfikować wpływ fotoasymilatów do korzenia, zwiększając jego wymagania w tym względzie (MC LAUGHLIN i in. 1981). Mikoryzy mogą więc do pewnego stopnia chronić roślinę przed tymi gazami (GARRET i in. 1982).

Pośredni wpływ zanieczyszczeń powietrza na grzyby mikoryzowe i mikoryzy jest znacznie groźniejszy niż oddziaływanie bezpośrednie. Gazowe zanieczyszczenia powietrza, takie jak tlenki siarki ( $SO_x$ ), tlenki azotu ( $NO_x$ ) i amoniak ( $NH_x$ ), są potencjalnymi kwasami, które wraz z opadami atmosferycznymi tworzą „kwaśne deszcze”, zakwaszając w znacznym stopniu glebę i prowadząc, szczególnie na ubogich glebach leśnych, do wzrostu stężenia toksycznych jonów glinu  $Al^{3+}$ . Grzyby ektomikoryzowe uważane są często za czynnik mogący ochronić drzewo przed wspomnianymi powyżej skutkami skażenia środowiska, poprzez zapewnienie roślinie lepszej kondycji odżywczej w porównaniu z roślinami bez mikoryz. Wydaje się jednak, że ten ochronny wpływ mogą grzyby ektomikoryzowe wywierać tylko do pewnego poziomu skażenia. Będzie to zależało także

od gatunku grzyba pozostającego w związku mikoryzowym. Stąd najnowsze badania w tej dziedzinie zmierzają w kierunku rozpoznania i selekcji gatunków i szczepów o największej odporności na różne czynniki skażające.

Z literatury wynika, że do grzybów wyjątkowo tolerancyjnych na niskie pH, a tym samym wygrywających konkurencję z innymi gatunkami w środowiskach narażonych na kwaśne deszcze, należą symbionty z rodzaju *Laccaria*. Na przykład na 9-tygodniowych siewkach *P. sylvestris* po 7 tygodniach traktowania  $SO_2$  procent mikoryz tworzonych z grzybem *Paxillus involutus* spadł z 80 do 30%, przy największej dawce  $SO_2$ ; a mikoryzy z *Laccaria proxima* nie uległy redukcji (TERMORSHUIZEN i in. 1989). Tylko 5 gatunków znaleziono na poletkach sosny rosnącej pod wpływem silnych zanieczyszczeń przemysłowych ( $SO_2$ , Zn) na terenie GOP, przy czym gatunkiem zdecydowanie dominującym był znów grzyb z rodzaju *Laccaria*, *L. laccata* (KOWALSKI i in. 1989) (tab. 5.10).

Dużą ekspansywność grzybów z rodzaju *Suillus* (maślak), przejawiającą się jesiennym obfitym wysypem owocników, wykazały badania rozwoju ektomikoryz u sosny zwyczajnej posadzonej na hałdach Kombinatu Górniczo-Hutniczego Bolesław oraz na Pustyni Starczynowskiej (KRUPA 1988). W tych skrajnych warunkach życiowych na jednej z powierzchni stwierdzono dominację mikoryzy *Suillus luteus* (maślak zwyczajny), a na drugiej *S. bovinus* (m. sitarz). Również w innych badaniach stwierdzono, że grzybnia tworząca mufkę grzybniową na korzeniach *P. sylvestris* z terenów silnie skażonych (GOP – Świerklaniec), jest bezbarwna do brązowej i morfologicznie podobna do grzybni z rodzaju *Suillus* (KOWALSKI 1987). Przytoczone dane wskazują na znaczną wytrzymałość tych grzybów na skażenie środowiska. HÖILAND (1986), badając liczbę owocników na poletkach (70-letnie sosny) traktowanych kwaśnymi deszczami o pH 2,5, 3,0, 4,0 i 5,6 wykazał, że w stosunku do kontroli całkowita liczba gatunków grzybów mikoryzowych zmniejszyła się, ale produkcja owocników wzrosła. Autor uważa, że zmienione zakwaszeniem gleby warunki umożliwiły rozwój grzybom odporniejszym lub lepiej przystosowanym do niskiego pH, eliminując tym samym gatunki słabsze, tzn. wrażliwsze na skażenia środowiska. W Finlandii na terenach silnie skażonych przez  $SO_2$ , tlenki azotu i amoniak, oprócz istotnego zmniejszenia różnorodności typów mikoryz oraz liczby korzeni mikoryzowych zaobserwowano zdecydowaną dominację mikoryz tworzonych przez

*Cenococcum graniforme* = *geophilum* (MARKKOLA i OHTONEN 1988; HOLOPAINEN 1989). Dominację tego gatunku na terenach skażonych, wykazały także badania w Polsce (KOWALSKI i in. 1989). Z kolei najważniejszy konkurent grzybów z rodzaju *Cenococcum*, ektendomikoryzowy symbiont, tzw. szczep E jest powszechnie związany z glebami neutralnymi czy nawet lekko alkalicznymi (DANIELSON i PRUDEN 1989). Stąd możliwe jest, że nadmierna kwasowość gleby hamując rozwój mikoryz tworzonych przez szczep E, umożliwiła zwiększoną ekspansję grzybom z rodzaju *Cenococcum*, którego mikoryzy są mało korzystne dla drzewa. DIGHTON i SKEFFINGTON (1987) także stwierdzili zmianę w składzie typów ektomikoryz na trzyletnich siewkach sosny pospolitej poddanych działaniu symulowanych kwaśnych deszczów. Ponadto zaobserwowali oni redukcję rozgałęzienia korzeni oraz zmniejszenie tzw. mikoryz koralowatych, charakteryzujących się obfitym rozwojem mufki grzybniowej, której wzrost został silnie zahamowany jako konsekwencja zmienionych przez zakwaszenie warunków glebowych. Autorzy ci skłonni są przypisywać te zmiany raczej wzrostowi stężenia glinu w glebie niż obniżonemu pH (patrz niżej). W czystej kulturze METZLER i OBERWINKLER (1987) uzyskali mikoryzę *P. sylvestris* z *Amanita muscaria* przy pH powyżej 4, z *Cenococcum geophilum* przy pH 4, z *Pisolithus tinctorius* poniżej pH 3,5, a korzenie tolerowały nawet pH poniżej 3. Ci sami autorzy stwierdzili, że w warunkach laboratoryjnych tworzenie mikoryz przez *P. sylvestris* przy nadmiernym zakwaszeniu podłoża jest ograniczone bardziej na skutek wrażliwości grzyba niż rośliny gospodarza. Limit dla tworzenia mikoryz określili oni na pH 3.

Należy podkreślić, że większość grzybów ektomikoryzowych to gatunki acidofilne, choć o dość zróżnicowanej tolerancji na zmiany pH (HUNG i TRAPPE 1983; DENNIS 1985). HUNG i TRAPPE (1983) podzielili testowane przez siebie grzyby mikoryzowe na 5 grup w zależności od wzrostu w czystych kulturach przy pH 2-7:

- 1) grzyby rosnące tylko w charakterystycznym dla siebie pH, np. *Amanita muscaria*,
- 2) grzyby zwiększające swój wzrost wraz ze wzrostem pH, np. *Hebeloma crustuliniforme*,
- 3) grzyby wykazujące doskonały wzrost w zakresie 3 jednostek pH, np. *Laccania laccata*, *Piloderma bicolor*, *Pisolithus tinctorius*, *Suillus lakei*,
- 4) grzyby wykazujące doskonały wzrost w zakresie 4 jednostek pH, np. *Rhizopogon vinicolor*, *Thelephora terrestris*,
- 5) grzyby rosnące nawet w zakresie 5 jednostek pH, np. *Cenococcum geophilum*.

Biorąc pod uwagę tak zróżnicowaną reakcję wzrostową grzybów ektomikoryzowych na zmiany pH, łatwo przewidzieć, że zakwaszenie gleb spowodowane przez kwaśne deszcze może w istotny sposób zmodyfikować wzrost grzybów, a tym samym tworzenie ektomikoryz w zmienionym przez skażenie przemysłowe środowisku.

Doświadczenia nad wpływem symulowanych kwaśnych deszczów na ektomikoryzy i grzyby mikoryzowe przynoszą niekiedy dość niejednoznaczne wyniki. Na przykład średni procent mikoryz na siewkach sosny, które poddano działaniu deszczów o pośredniej kwasowości (4,0 i 3,2) był niższy niż na siewkach, które potraktowano deszczem o kwasowości 2,4 (odpowiednio 45 i 62%) (SHAFER i in. 1985). Wprawdzie grzyby mikoryzowe są w większości acidofilne, a niektóre inne dane też wskazują na wzrost tworzenia ektomikoryz wraz ze wzrostem kwasowości podłoża (MARX i ZAK 1965; THEODOROU i BOWEN 1969; MIKOLA 1973), to wydaje się, że długotrwałe zakwaszenie gleby związane z dalszym osadzaniem się kwasu, odwraca prawdopodobnie tę początkową stymulującą tendencję uzyskiwaną w niektórych doświadczeniach. Dowodem są przedstawione powyżej liczne doniesienia o zmniejszeniu się frekwencji mikoryzowej na korzeniach sosny czy zmniejszaniu pojawiania się owocników grzybów ektomikoryzowych na terenach poddawanych działaniu kwaśnych deszczów.

METZLER i OBERWINKLER (1987) wyróżniają 4 możliwe reakcje grzyba i drzewa na zakwaszenie gleby:

- 1) zarówno grzyb, jak i drzewo tolerują niskie pH i rosną dobrze,
- 2) grzyb rośnie słabiej, ale korzenie gospodarza rosną nadal, choć drzewo może stać się wrażliwsze na suszę, atak patogenów i brak pokarmów,
- 3) grzyby mogą znosić obniżone pH, natomiast nie toleruje go drzewo; system korzeniowy wykazuje pewne zmiany, jak np. brak nowych wierzchołków i brązowienie systemu korzeniowego,
- 4) zarówno grzyb, jak i drzewo cierpią na skutek zakwaszenia gleby i wzrost obu partnerów mikoryzowych jest niemożliwy.

Należy podkreślić, że wśród gatunków iglastych sosna należy do drzew wrażliwych na ujemne oddziaływanie skażenia środowiska, ale wrażliwsze są jodła i świerk. Stąd

Tabela 5.12

Średnia zawartość ołowiu w mikoryzowych i niemikoryzowych korzeniach *Pinus sylvestris* w terenie skażonym\* oraz na plantacji kontrolnej\*\* (wg KRUPY 1988)

Miejscowość	Korzenie mikoryzowe		Korzenie niemikoryzowe	
	wiosna	jesień	wiosna	jesień
	[µg/g]			
Huta „Bolesław”	6,4	7,2	0,8	1,5
Pustynia Starczynowska	11,4	13,0	0,8	1,4
Kokotek (kontrola)	1,5	3,0	0,8	0,7

\* Hałdy Kombinatu Górniczo-Hutniczego „Bolesław” w Bukowni i Pustynia Starczynowska

\*\* Miejscowość Kokotek koło Lublińca

w przypadku sosny obserwuje się na ogół dwie pierwsze z wymienionych reakcji.

#### 5.5.8.2. WPLYW GLINU ORAZ JONÓW INNYCH METALI

Z procesem degradowania gleb i destabilizacji ekosystemów leśnych przez kwaśne deszcze, wiąże się ściśle uwalnianie toksycznych jonów glinu. Poniżej pH 4,2 stężenie jonów  $Al^{3+}$  w roztworze glebowym może osiągnąć wartości, które drastycznie uszkadzają systemy korzeniowe drzew (PRUSINKIEWICZ I POKOJSKA 1989). Stąd właśnie toksyczność jonów glinu przyjmują niektórzy autorzy za główną przyczynę zamierania lasów będących pod wpływem kwaśnych deszczów (ULRICH i in. 1980). Toksyczny wpływ jonów glinu na funkcjonowanie mikoryz odbywać się może zarówno za pośrednictwem wpływu na fizjologię korzenia, jak i na metabolizm grzybów ektomikoryzowych.

Grzyby mikoryzowe hodowane w czystych kulturach na pożywkach ze zmienną zawartością glinu, wykazują w mniejszym lub w większym stopniu zahamowanie wzrostu (THOMPSON I MEDVE 1984; OELBE-FARIVAR 1985; HINTIKKA 1988). Obok bezpośredniego wpływu na wzrost grzybów ektomikoryzowych, ujemne działanie jonów glinu odbijać się może na funkcjonowaniu ektomikoryz, przede wszystkim poprzez porażenie systemu korzeniowego. Konsekwencją uszkodzenia korzeni są zakłócenia gospodarki wodnej i głodowanie całych roślin (PRUSIN-

KIEWICZ I POKOJSKA 1989). Według ULRICHA (1983) toksyczne jony glinu uszkadzają ściany i membrany plazmatyczne komórek korzeni. Ogromna rola mikoryz w ochronie drzewa przed zakwaszeniem gleby i związanym z tym wzrostem stężenia toksycznych jonów glinu, polega między innymi na zdolności do włączania jonów  $Al^{3+}$  w mniej aktywne związki, np. połączenia hydroksyglinowe, fosforany, krzemiany lub kompleksy organiczne typu chelatów. Wykazano, że część grzybów mikoryzowych produkuje duże ilości kwasu szczawiowego (LAPEYRIE 1987), który kompleksując jony  $Al^{3+}$  przyczynia się do ich detoksyfikacji (ULRICH 1983).

Glin, jako pierwiastek stosunkowo mało mobilny, wpływa u roślin głównie na wierzchołki korzeniowe. Badania histochemiczne (BENNET i in. 1985) wykazały, że glin jest przede wszystkim absorbowany przez zewnętrzne komórki czapeczki oraz śluzowate wydzieliny otaczające korzeń, rzadko docierając do jego wnętrza. Można przypuszczać, że obecność ektomikoryz na powierzchni korzeni sosny może stanowić do pewnego stopnia barierę przed szkodliwym działaniem na drzewo bogatych w glin, zakwaszonych imisjami przemysłowymi gleb leśnych.

Obok glinu na liście pierwiastków, których niebezpieczne stężenie na terenach skażonych stwierdzono w glebach i wodach glebowo-gruntowych, znajdują się zwykle cynk, ołów, miedź, a także mangan i nikiel.

DIXON I BUSCHENA (1988) wykazali, że rozwój mikoryz *Suillus luteus* na siewkach sosny znacznie

ograniczała obecność w podłożu takich pierwiastków jak: kadm, nikiel, cynk, miedź i ołów. Tym niemniej osobniki z mikoryzami na korzeniach były wyższe, niż kontrolne siewki bez mikoryz, rosące w obecności toksycznych stężeń tych metali w podłożu. Siewki mikoryzowe wykazywały również niższą zawartość metali w igłach. Cytowane wyżej dane wspierają hipotezę o ochronnej roli ektomikoryz przed ujemnym oddziaływaniem toksycznych stężeń metali ciężkich na korzenie drzew (BRADLEY i in. 1982; BROWN i WILKINS 1985; JONES i HUTCHINSON 1988a; 1988b). Zjawisko to jest słabo poznane. Dopiero w ostatnich latach badacze zaczęli poświęcać mu więcej uwagi. Niestety niewiele doświadczeń dotyczy mikoryz sosny, choć może-

ziom ołowiu w materiale pochodzącym ze zbiorów jesiennych jest prawdopodobnie wynikiem kumulacji w ciągu okresu wegetacji ołowiu pochodzącego z gleby i powietrza.

Zdolność poszczególnych gatunków grzybów ektomikoryzowych do akumulacji w grzybni metali ciężkich zależy prawdopodobnie od fizjologii danego gatunku, a szczególnie specyfiki jego wzrostu (LEPŠOVÁ i MEJSTRIK 1989). Stąd drzewa tworzące ektomikoryzę z grzybami bardziej efektywnymi w procesie detoksyfikacji mogą być szczególnie przydatne do zalesiania terenów zniszczonych przez przemysł i skażonych metalami. Wykonane w Czechach przez LEPŠOVÁ i MEJSTRIKA

Tabela 5.13

Stężenie ołowiu (mg/g św. masy) w kapeluszach owocników grzybów ektomikoryzowych w zależności od odległości od huty ołowiu oraz kierunku wiatru; \*grzyby jadalne (wg LEPŠOVÁ i MEJSTRIK 1989)

Gatunek grzyba	Odległość od huty			
	S 200 m	E 400 m	SW 600 m	NE 1,8 km
* <i>Leccinum scabrum</i>	–	181	–	–
* <i>Xeroconus badius</i>	143	245	290	–
* <i>Russula aeruginea</i>	–	–	–	27
* <i>R. atropurpurea</i>	–	–	–	14
* <i>R. nigricans</i>	–	–	–	10
* <i>Amanita spissa</i>	192	370	193	–
<i>A. muscaria</i>	50	65	168	–
<i>Paxillus involutus</i>	–	219	198	–
<i>Lactarius rufus</i>	206	–	243	–

my przypuszczać z dużą dozą prawdopodobieństwa, że mechanizm detoksyfikacji przez mikoryzy jest u drzew mniej więcej podobny i polega przede wszystkim na zatrzymywaniu metali ciężkich w mufce grzybniowej (MORSELET i in. 1986; JONES i HUTCHINSON 1988a; 1988b; KUMPFER i HEYSER 1989; POITOU i OLIVIER 1989).

KRUPA (1988) podaje interesujące dane o wpływie mikoryzy ektotroficznej na pobieranie ołowiu przez sosnę zwyczajną z trzech powierzchni badawczych o różnym stopniu skażenia (tab. 5.12). Znaczne różnice między zawartością Pb w korzeniach mikoryzowych i niemikoryzowych wskazują na akumulację tego pierwiastka w strzępkach grzyba tworzącego mufkę grzybniową, a wyższy po-

(1989) analizy zawartości ołowiu, kadmu, miedzi, żelaza, cynku, manganu, kobaltu i niklu w owocnikach grzybów mikoryzowych będących pod silną presją emisji przemysłowych wykazały, że stężenie wyżej wymienionych pierwiastków zależy w znacznym stopniu od gatunku grzyba tworzącego ektomikoryzę. Do grzybów odznaczających się zdolnością do zwiększonej akumulacji pierwiastków śladowych zaliczają autorzy grzyby z rodzaju *Amanita* oraz gatunki *Russula ochroleuca* i *Xeroconus badius* (podgrzybek brunatny, najpowszechniej zbierany i spożywany grzyb w naszym kraju).

Stężenie ołowiu i kadmu w owocnikach grzybów zbieranych w bezpośredniej bliskości huty ołowiu są 2 do 3 razy wyższe od tych jakie podaje się dla terenów miejskich (LAAKSOVIRTA i ALAKUJALA 1978) oraz pobliza bardzo uczęszczanych dróg i autostrad (MC CREIGHT i SCHROEDER 1977; KUTHAN

1979). Wraz z oddalaniem się od źródła emisji w kierunku dominujących na danym terenie wiatrów, zawartość ołowiu i kadmu w kapeluszach i trzonach grzybów ektomikoryzowych ulega zmniejszeniu (LEPSOVA i MEJSTRIK 1989). Dłg gatunków, które autorzy uznali za bardzo odporne na podwyższone stężenia ołowiu i kadmu, należą *Amanita muscaria*, *Paxillus involutus*, *Lactarius rufus*, podczas gdy owocników gatunków z rodzaju *Russula* (gołąbek) z reguły nie było na stanowisku o wysokiej zawartości tych pierwiastków (tab. 5.13). Podobne badania przeprowadzone w Szwecji wokół huty metali Gusum (RÜHLING i in. 1984), gdzie teren skażony był głównie przez miedź i cynk, wykazały, że biomasa grzybnia w glebie na terenach zanieczyszczonych zmniejszyła się o 60% w stosunku do terenu nieskażonego. Liczba gatunków produkujących owocniki też uległa zmniejszeniu z 35 w kontroli do około 15 wokół huty. Autorzy podzielili obserwowane przez siebie grzyby na 3 grupy. *Laccaria lucata* była grzybem, którego liczba owocników istotnie zwiększyła się na poletkach o najwyższym skażeniu miedzią (4000 µg Cu/g materii organicznej); wiele gatunków zmniejszyło swoją populację wraz z rosnącym skażeniem gleby metalami. Należały tu m.in. takie grzyby ektomikoryzowe jak *Cantharellus cibarius*, *Paxillus involutus*, *Tricholoma portentosum* i gatunki z rodzaju *Cortinarius*, *Lactarius* i *Russula*. Wraz z rosnącym stężeniem miedzi (od 600 do 4000 µg Cu/g materii organicznej) 11 gatunków nie wykazywało istotnych zmian w występowaniu owocników na poletkach. Te grzyby autorzy wyróżnili jako tolerancyjne na miedź (*Amanita muscaria*, *A. porphyria*, *Cantharellus tubaeformis*, *Leccinum scabrum*, *Tricholoma imbricatum*). Grzyby mogą różnić się tolerancją na skażenie miedzią nawet w obrębie rodzaju. I tak, owocniki *Cantharellus tubaeformis* (pieprznik trąbkowaty) znajdowano na terenach silnie skażonych miedzią, a *C. cibarius* (p. jadalny – kurka) nie pojawiał się już nawet w średniej strefie skażenia.

Hodowla grzybów ektomikoryzowych w czystych kulturach stanowi powszechny model do badań nad wpływem metali na fizjologię wzrostu i rozwoju grzybów, jak również sposób weryfikacji w warunkach laboratoryjnych obserwacji poczynionych w terenie. Metale (Cd, Pb, Ni, Zn) dodane do pożywek różnicowały znacznie wzrost ektomikoryzowych grzybów, zarówno w obrębie rodzaju, gatunku, a nawet szczepów tego samego gatunku (MC CREIGHT i SCHROEDER 1982; PACHLEWSKI i CHRUSCIAK 1986). Chociaż kadm (w stężeniu 350 ppm lub poniżej) i nikiel (w stężeniach 20-220 ppm) hamowały wzrost wielu grzybów ektomikoryzowych, to uważa się, że metale te mogą zagrozić rozwojowi

ektomikoryz tylko w sytuacji bardzo bliskiego sąsiedztwa hut metali kolorowych. Natomiast zawartość tych pierwiastków w glebie pochodzącej z pogranicza dróg i autostrad jest zbyt niska, by mogła wpłynąć istotnie na grzyby ektomikoryzowe (1,82 ppm Cd i 4,7 ppm Ni).

Tylko niewielu autorów sprawdziło, w warunkach kontrolnych (*in vitro*), reakcję grzybów ektomikoryzowych na niektóre metale u izolatów pochodzących z terenów silnie skażonych oraz z powierzchni kontrolnych. Chodzi tu o zweryfikowanie hipotezy, która zakłada, że izolaty pochodzące z terenów zanieczyszczonych mogą znosić wyższe stężenia metali niż izolaty z terenów kontrolnych. BROWN i WILKINS (1985) nie wykazali korelacji pomiędzy zawartością cynku w miejscu zbioru owocników grzybów *Amanita muscaria* i *Paxillus involutus* a ich tolerancją na ten metal w hodowli *in vitro*. Uważają jednak, że możliwa jest selekcja tolerancyjnych na niektóre metale szczepów grzybów ektomikoryzowych. W efekcie wzrost siewek poddanych działaniu toksycznych stężeń cynku zwiększał się, gdy zostały one zaszczerpione tolerancyjnymi na te metale grzybami.

Niekiedy testy w kulturach sterylnych mogą być mylące (JONES i HUTCHINSON 1988a; 1988b). Ekotypy wskazane jako tolerancyjne na metale ciężkie w czystych kulturach często nie wykazują tych cech po wejściu w symbiozę mikoryzową. Na przykład grzyb *Scleroderma flavidum* był niezdolny do wzrostu *in vitro* jako grzybnia wegetatywna przy niskim stężeniu niklu, chociaż bardzo obficie owocował na terenach o najwyższym stężeniu tego pierwiastka w glebie. Wydaje się jednak, że dokładne analizy występowania różnych grzybów na terenach skażonych skonfrontowane z testami *in vitro*, pozwolą na wyróżnienie niektórych gatunków grzybów ektomikoryzowych posiadających szczególne predyspozycje do wzrostu w obecności metali toksycznych. Już choćby na podstawie kilku danych z literatury wynika, że izolaty gatunków *Laccaria* (*L. laccata*, *L. proxima*, *L. bicolor*) charakteryzują się wyjątkową odpornością na różne niesprzyjające czynniki środowiska (MC CREIGHT i SCHROEDER 1982; RÜHLING i in. 1984; JONES i HUTCHINSON 1988a; KOWALSKI i in. 1989).

Na koniec warto jeszcze wspomnieć o akumulacji przez grzyby mikoryzowe pierwiastków promieniotwórczych. Problem dotyczy głównie cezu <sup>137</sup>Cs i strontu <sup>90</sup>Sr, które to pierwiastki są zwłaszcza akumulowane przez grzyby. W ostatnich latach, w związku z katastrofą czarnobylską obserwuje się zwiększoną akumulację obu tych pierwiastków zarówno w ściółce, jak i owocnikach grzybów ektomikoryzowych (BOHÁČ i in. 1989).

Badania porównawcze zawartości cezu i strontu w owocnikach niektórych grzybów ektomikoryzowych w lasach w okolicy Kurska wykazały, że wartości współczynnika akumulacji są dla cezu  $^{137}\text{Cs}$  wyższe niż dla strontu  $^{90}\text{Sr}$ , a różne gatunki grzybów dość znacznie się różnią pod względem zdolności do akumulacji tych pierwiastków (tab. 5.14).

Tabela 5.14

Współczynnik akumulacji radioaktywnego strontu i cezu w owocnikach różnych grzybów ektomikoryzowych w lesie w okolicach Kurska (wg BOHAČ i wsp. 1989)

Gatunek grzyba	$^{90}\text{Sr}$	$^{137}\text{Cs}$
<i>Paxillus involutus</i>	0,60	1,20
<i>Russula virescens</i>	0,60	0,60
<i>Lactarius piperatus</i>	0,02	1,20
<i>Boletus aestivalis</i>	0,02	1,20
<i>Boletus verspellis</i>	0,04	0,04
<i>Armillaria mellea</i> (patogen sosny)	0,003	0,06

W Polsce, po wybuchu w Czarnobylu wysoki poziom skażenia promieniotwórczym cezem utrzymuje się szczególnie w owocnikach podgrzybka brunatnego (*Xerocomus badius*) z terenów północno-wschodniej i południowej części naszego kraju. Nawyższe skażenie zaobserwowano w grzybach przywiezionych z terenów byłego ZSRR (WOJEWODA 1992).

#### 5.5.8.3. WPŁYW SKAŻENIA AZOTOWEGO

Nadmierna zawartość azotu w glebie wywiera negatywny wpływ na ektomikoryzy i grzyby mikoryzowe, a także stanowi jeszcze jeden bardzo istotny element skażenia środowiska. Jedną z przyczyn rosnącej zasobności gleb w związki azotowe jest nawożenie szkółek oraz lasów (BAULE i FRICKER 1973). Znacznym źródłem azotu w środowisku jest także przemysł chemiczny. Większość związków amonowych pochodzi z fabryk nawozów azotowych oraz nawozów naturalnych, przede wszystkim w pobliżu wielkich farm zwierzęcych (TERMORSHUIZEN i in. 1988). Problem skażenia azotowego stał się na tyle ważny, że jako jedną z przyczyn zamierania lasów zaczęto podawać tzw. hi-

potęgę amonową (NIHLGARD 1985), która zakłada, że przyczyną zamierania drzewostanów środkowej i zachodniej Europy jest nadmierne osadzenie się w glebie jonów amonowych w formie suchej i mokrej. Z powodu szybkiego rozprzestrzeniania się niewielkich cząsteczek kwaśnego siarczanu amonu nadmierne nasycenie gleby azotem może wystąpić nie tylko w bezpośrednim sąsiedztwie źródła skażenia, ale nawet w odległości 100 do 1000 km (NIHLGARD 1985). Przyjmuje się, że opad azotu do gleby w dawce 5-10kg N/ha-rok nie wywołuje żadnych ujemnych skutków biologicznych (BOXMAN i ROELOFS 1988). Tymczasem w wielu rejonach Europy, także w Polsce, wartości te przekraczane są 10- do 20-krotnie, osiągając w skrajnych przypadkach poziom 500kg N/ha/rok (ANONIM 1986c). Według ÅGREN (1983) las sosnowy jest nasycony azotem na 25-50 lat po wprowadzeniu dawki 25 kg N/ha/rok; lasy otrzymują azotu znacznie więcej. Nadmiar azotu w glebie wpływa hamująco na szereg istotnych procesów biochemicznych w roślinie (BOXMAN i ROELOFS 1988; KAROLEWSKI 1989b) i nie może się nie odbić na tak skomplikowanym układzie, jakim jest symbioza mikoryzowa.

Już STAHL (1900), zaobserwował, że obecność mikoryz u drzew leśnych jest manifestacją gleb ubogich w składniki pokarmowe. Fakt, że gleby ubogie są korzystniejsze dla formowania się mikoryz niż plantacje nawożone azotem, potwierdzili MELIN (1923), HATCH (1937), MC COMB (1938), BJÖRKMAN (1942), HACSKAYLO (1957), HARLEY (1969) oraz badania rosyjskie opracowane przez SHEMAKHANOVĄ (1967). Były to pierwsze sygnały o możliwym skażeniu gleby przez nawozy azotowe i ich negatywnym wpływie na mikoryzę. Wówczas jeszcze nie wiązano nadmiernego osadzenia się azotu w glebie z zamieraniem lasów. Tymczasem są dowody na istnienie łańcucha zależności: skażenie azotowe – zanik mikoryz – zamieranie lasów. Negatywny wpływ azotu na ektomikoryzę ocenia się najczęściej poprzez badania ilościowe i jakościowe mikoryz na korzeniach, bądź też poprzez ocenę występowania owocników, uważanych za bezpośredni przejaw obec-



ności ektomikoryz na korzeniach (LAIHO 1970). W 75-95-letnim drzewostanie *P. sylvestris*, w 4 lata po zastosowaniu nawożenia azotowego (200 kgN/ha), LAIHO i wsp. (1987) stwierdzili raczej jakościowe niż ilościowe zmiany w obrębie mikoryz. Niemal wszystkie krótkie korzenie przekształcone były w mikoryzy, które sklasyfikowano w 8 grup. Jednakże jakość mikoryz uległa zmianie: mufka grzybniowa była istotnie cieńsza niż na poletkach kontrolnych (17µm i 22µm), a sieć HARTIGA słabiej penetrowała przestrzenie międzykomórkowe kory pierwotnej korzenia (57µm w stosunku do 67µm w kontroli).

ITTER i TÖLLE (1978) w 110-letnim drzewostanie sosnowym po zastosowaniu azotu 300-3000kg/ha stwierdzili proporcjonalny spadek frekwencji mikoryzowej z 88 do 57% oraz całkowity zanik owocników takich ważnych grzybów ektomikoryzowych (już przy dawce 300kg N/ha), jak *Suillus luteus*, *S. bovinus*, *Boletus edulis*, *Tricholoma portentosum* czy *Cantharellus cibarius*. Bardzo podobne wyniki uzyskał UEBEL (1982), podkreślając jednocześnie, że wraz ze spadkiem populacji grzybów ektomikoryzowych rozprzestrzeniają się grzyby saprofityczne. Wpływ nawożenia na rozwój mikoryz sosny zwyczajnej w szkółce ocenili ANTILLA i LÄHDE (1977). Efekt był silniejszy niż w starszych drzewostanach. Najwyższa dawka azotu niemal całkowicie zahamowała formowanie mikoryz, a rosnące stężenie azotu wyraźnie stymulowało mikoryzę ektendotroficzną na niekorzyść ektomikoryz. Co jest bardzo istotne, nawożenie szkółki zmniejszyło znacznie rozgałęzienie systemu korzeniowego, a więc potencjalnie mniej mikoryz mogło powstać na każdej siewce.

Do końca nie rozwiązany problemem pozostaje nadal kwestia jaka forma azotu (azotanowa czy amonowa) stanowi większe zagrożenie dla nowo powstających i już funkcjonujących mikoryz. Wielu autorów uważa, że nawozy azotanowe silniej ograniczają formowanie się ektomikoryz niż nawozy amonowe (BIGG 1981; RUDAWSKA 1986a). Może to być spowodowane tym, że szereg grzybów ektomikoryzowych słabo lub wcale nie wykorzystuje jonu azotanowego, a nawet wpływa on hamująco na ich wzrost (SARJALA 1990). BIGG (1981) uważa,

że asymilacja azotanu wymaga nakładu znacznej energii niezbędnej do jego przekształcania w przyswajalną przez korzenie formę amonową (redukcyjna aminacja). Wiąże się to ze spadkiem puli węglowodanów w korzeniach do poziomu, który może być zbyt niski dla utrzymania symbiozy mikoryzowej. Z kolei w niektórych doświadczeniach porównawczych (WALLANDER i NYLUND 1989; 1991) raczej jon amonowy wpływał silniej ograniczająco na tworzenie mikoryz, aniżeli wysokie stężenie azotanu. Spowodowane to było znacznie wyższą absorpcją azotu ze źródła amonowego (NH<sub>4</sub>Cl) niż azotanowego (KNO<sub>3</sub>), a w rezultacie wysoką zawartością azotu w części nadziemnej siewek. NYLUND (1988) uważa, że gdy poziom azotu w tkankach igieł sosny przekracza 1,6%, wówczas mikoryza ulega zahamowaniu. Takie stężenie azotu w tkankach części nadziemnej występuje przy stężeniu azotu w substracie 100 ppm i więcej, co można przyrównać do dawki 100 kg N/ha.

Z cytowanych wcześniej danych wynika, że w nawożeniu lasu często stosuje się dawki znacznie wyższe i dlatego obserwuje się na ogół zanik mikoryz.

PACHLEWSKI i wsp. (1978) wykazali, że dawki azotu stosowane w nawożeniu szkółek leśnych użyte do hodowli grzybów mikoryzowych w czystych kulturach są zbyt wysokie i wpływają hamująco na wzrost grzybni, a zapotrzebowanie poszczególnych grzybów mikoryzowych na azot pochodzący z różnych jego form kształtuje się bardzo różnie. Jedne grzyby preferują amonową formę azotu (*Suillus luteus*, *Cenococcum graniforme*, *Amanita muscaria*, *Rhizopogon luteolus*, *Russula enetica*), a np. ektendomikoryzowy szczep MrgX wykorzystuje lepiej jon azotanowy. Indywidualne preferencje poszczególnych gatunków grzybów mikoryzowych w stosunku do różnych źródeł azotu, mogą więc tłumaczyć dlaczego w doświadczeniach różnych autorów brak jednoznaczności odnośnie do negatywnego wpływu nadmiernych dawek amonowej lub azotanowej formy azotu na mikoryzy (KOBBERG 1966; SLANKIS 1974; TERMORSHUIZEN i in. 1989; TERMORSHUIZEN i KET 1991).

W rozważaniach nad wpływem azotu na mikoryzę muszą również być brane pod uwagę preferencje rośliny wyższej (ALEXANDER 1983). Sosna jest gatunkiem mało wymagającym wobec składników pokarmowych i dlatego dość szybko ulega zatruciu azotowemu. Stąd wyjściowa zawartość azotu w glebie będzie też miała ważny wpływ na końcowy wynik przeprowadzonych doświadczeń.

Często niewielki dodatek azotu (10kg N/ha/rok) do bardzo ubogiej gleby może dać pewien pozytywny wpływ na tworzenie mikoryz (RUDAWSKA 1986a; TERMORSHUIZEN i KET 1991), ale po przekroczeniu pewnego progu (wg NYLUNDA 1,6% N w tkankach igieł) negatywny wpływ na mikoryzy staje się ewidentny. Potwierdzają to badania wykonane w warunkach polowych na 8-letnich sadzonkach sosny zwyczajnej (TERMORSHUIZEN i in. 1988). Wraz z rosnącym stężeniem nawozów amonowych obserwowano mniej mikoryz, ograniczenie liczby pojawiających się owocników oraz gatunków. Obserwacje polowe dodatkowo wskazały, że ujemny wpływ nawożenia azotowego na mikoryzy jest silnie negatywnie skorelowany z zawartością w powietrzu dwutlenku siarki i amoniaku (TERMORSHUIZEN i in. 1988; SCHAFFERS i TERMORSHUIZEN 1989). W regionie o słabym skażeniu zebrano 5477 owocników grzybów mikoryzowych z 12 gatunków, podczas gdy w regionie silnie skażonym amoniakiem i dwutlenkiem siarki zebrano tylko 45 owocników z dwu gatunków. Przyjmuje się, że bezpośredni wpływ nawożenia ustępuje na ogół po 3 latach od zastosowania nawozu (MENGE i in. 1977). Wykonana w 13 lat od nawiezienia ocena liczby i jakości mikoryz na korzeniach sosny ujawniła 85% frekwencję mikoryzową na poletkach nawożonych i nienawożonych siewek sosny (ARNEBRANT i SÖDERSTRÖM 1989). Nawet po 13 latach od wykonania zabiegu nawożenia jego skutki trwały w glebie. Wykazano istotne różnice w kompozycji mikoryz (żółte, białe i różowe), a tym samym w składzie gatunkowym grzybów składających się na ektomikoryzę. Autorzy uważają, że związane to może być ze zmianą odczynu gleby spowodowaną zastosowanymi nawozami.

Ponieważ jednak nawożenie stanowi atrakcyjną sposobność uzyskania dużych i dorodnych siewek do nasadzeń, naukowcy starają się znaleźć kompromis pomiędzy nawożeniem a mikoryzą. Jednym ze sposobów jest selekcja symbiontów mikoryzowych o stosunkowo dużej tolerancji na nawożenie azotowe. VÄRE (1990) spośród 9 symbiontów *P. sylvestris* proponuje do zaszczepień sadzonek w kontenerach dwa gatunki: *Piloderma*

*croceum* i *Cenococcum geophilum*, określając je jako najbardziej obiecujące, gdyż tworzą mikoryzę w szerokim zakresie żyzności podłoża w porównaniu z innymi symbiontami. Innym wyjściem kompromisowym jest częste podawanie niewielkich ilości nawozów, które w przeciwieństwie do stosowanych niekiedy w leśnictwie jednorazowych dużych dawek nawozowych, nie wywierają negatywnych skutków na występowanie i funkcjonowanie mikoryz. Wprowadza się ostatnio również tzw. nawozy wolnorozpuszczalne (patrz rozdz. 5.6). Przedstawiony powyżej przegląd wskazuje, że zanik mikoryz może być ważnym przejawem ujemnego wpływu rosnącego opadu związków azotowych do gleby, składającego się na tzw. amonową hipotezę zamierania lasów zaproponowaną przez NIHLGARDA (1985).

#### 5.5.8.4. WPLYW WAPNOWANIA

Zakrojone na szeroką skalę wapnowanie gleb stosuje się obecnie w celu przeciwdziałania ich zakwaszeniu powodowanemu przez kwaśne deszcze. Poza tym jest to zabieg stosowany w celu poprawy odczynu oraz właściwości fizykochemicznych gleby, oddziałujący, jak się dotąd wydawało, pozytywnie na biologię gleby i przyczyniający się do zmian mikrobiologicznych, biochemicznych i fizjologicznych rizosfery, a tym samym wpływający także na wzrost drzew. Szczegółowych badań nad wpływem wapnowania na grzyby ektomikoryzowe i mikoryzy jest niewiele. Można jednak przypuszczać, że wapnowanie działa selektywnie na mikroflorę glebową, również na grzyby mikoryzowe. Wśród tych ostatnich znajdują się gatunki w większym lub w mniejszym stopniu tolerujące wyższe pH, a nieraz wręcz wymagające w swoim metabolizmie większej zasobności wapna w podłożu. Przemawiałyby za tym takie przykłady, jak obecność mikoryzy na korzeniach sosny reliktovej na skałkach wapiennych w Pieninach (DOMINIK 1961a) czy też pozytywny wpływ mikoryzy *Suillus granulatus* na rozwój *P. nigra* na glebach wapiennych (CLEMENT i in. 1977).

Wydaje się jednak, że wspomniane powyżej przykłady to wyjątki. Grzyby ektomikoryzowe to gatunki w większości acidofilne, wykazujące optimum wzrostu w czystych

kulturach przy pH = 3-6 i wydaje się, że wapnowanie i związany z tym wzrost pH glebowego, pociąga za sobą pewien negatywny wpływ na mikoryzę i grzyby mikoryzowe. MIRCHNIK (1957) podaje, że wapnowanie gleb może powodować redukcję liczby grzybów w glebie.

RICHARDS (1965) uważa, że mikoryzy tworzą się w stosunkowo szerokim zakresie wartości pH i w przypadku kiedy następuje zahamowanie tworzenia mikoryz, to jest to raczej efekt wysokich stężeń azotanu w glebie, niż zbyt alkalicznego odczynu. Jednakże THEODOROU i BOWEN (1969) w doświadczeniu nad wpływem pH i azotu na grzyby ektomikoryzowe i siewki *Pinus radiata* wykazali, że to właśnie alkaliczność gleby ma decydujący wpływ na zahamowanie tworzenia mikoryz. W teście laboratoryjnym zarówno wzrost siewek sosny, jak i formowanie mikoryz zmniejszyły się, kiedy pH gleby z początkowego 6,2 wzrastało do 8, a ektomikoryzy zostały całkowicie zastąpione przez ektendomikoryzy.

Z obserwacji MIKOLI (1966) wynika, że na glebach alkalicznych mufka grzybniowa na korzeniach sosny jest cieńsza, a poza tym wapnowanie redukuje dichotomię korzeni sosny. LETHO (1984) oceniając wpływ wapnowania na poletkach sosny w 20 lat po jego zastosowaniu, zaobserwowała na korzeniach wzrost mikoryz typu D, ocenianych jako niezbyt efektywne (z *Cenococcum graniforme*), natomiast spadek „dobrych” mikoryz typu A.

SEMJKONOWA (1989) w doświadczeniu polowym poddała analizie wpływ różnych poziomów wapnowania na jednoroczne siewki sosny zwyczajnej w celu określenia optymalnych i toksycznych dawek tego zabiegu. Nie uzyskano korelacji pomiędzy ilością zastosowanego wapna a intensywnością tworzenia mikoryz na korzeniach sosny. Największy wzrost mikoryz obserwowano na korzeniach sosny z poletka, które otrzymało 0,5 tony wapna na hektar (pH 4,5), najniższą przy dawce 4t/ha (pH 6,3). Ale nawet przy dawce 25 ton wapna na hektar 92% siewek sosny miało dichotomiczne rozgałęzienia. Autorka uważa, że nawet zastosowanie wysokich dawek wapna i wzrost pH z 4,3 (kontrola) do 7,8 (25 t/ha) nie wyklucza możliwości tworzenia mikoryz.

Badania nad wpływem wapna na tworzenie mikoryz, wykonane w laboratorium, dają wyniki bardziej jednoznacznie negatywne. W doświadczeniach ERLAND i SÖDERSTRÖM (1990) siewki sosny rosły w laboratorium w glebie leśnej i traktowano je różnymi dawkami CaO, w celu uzyskania pH od 4 do 7. Frekwencja mikoryzowa z 70% przy pH

Tabela 5.15

Wpływ wapnowania na występowanie owocników grzybów ektomikoryzowych na 25-letnim stanowisku *Pinus sylvestris* (wg KUYPER 1988)

	Powierzchnia wapnowana	Powierzchnia kontrolna
Całkowita liczba owocników grzybów ektomikoryzowych	8	13
Średnia liczba owocników grzybów ektomikoryzowych na poletku	1,1	2,5**
<i>Laccaria</i> sp.	6%	48%**
<i>Lactarius hepaticus</i>	47%	89%*
<i>Xerocomus badius</i>	11%	26%
<i>Paxillus involutus</i>	25%	26%
Średnia liczba gatunków saprofitycznych na poletku	6,3	9,6**

\* Wynik istotny statystycznie przy  $P < 0,05$ ; \*\* przy  $P < 0,01$ .

4 wzrastała do prawie 100% przy pH 5, po czym zmniejszała się poniżej 40% przy pH 7,5. Przy pH powyżej 7 wzrost siewek ulegał zahamowaniu. Autorzy ci są zdania, że sosna zwyczajna znosi umiarkowane wapnowanie raczej dobrze i jedynie przy bardzo wysokich dawkach może zachodzić istotna redukcja typów oraz liczby mikoryz.

PACHLEWSKI i CHRUŚCIAK (1983), badali wpływ różnych nazwozów wapniowych zalecanych w leśnictwie (CaO i CaCO<sub>3</sub>) oraz porównawczo związki stosowane w doświadczałnictwie i praktyce (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O i CaCl<sub>2</sub>) na wzrost grzybów mikoryzowych *in vitro*. Najsilniej reagowały grzyby mikoryzowe na tlenek wapniowy (CaO), który powodował alkalizację podłoża i w przypadku *Amanita verna*, *Cenococcum graniforme* i *Rhizopogon luteolus* zahamowanie wzrostu, związane głównie z wrażliwością tych grzybów na odczyn podłoża. Do gatunków o większej tolerancji, które nie wykazywały zahamowania wzrostu nawet przy najwyższych stężeniach CaO, należały *Suillus granulatus* i *S. luteus*.

W warunkach naturalnych określono wpływ wapnowania na skład gatunkowy grzybów ektomikoryzowych w 25-letnim drzewostanie sosnowym w Holandii (KUYPER 1988). Na poletkach kontrolnych obecnych było 13 gatunków grzybów ektomikoryzowych, a tylko 8 gatunków na poletkach wapnowanych. Gatunki z rodzaju *Laccaria*

(*L. proxima* i *L. bicolor*) oraz *Lactarius hepaticus*, były szczególnie wrażliwe na wapnowanie, natomiast *Paxillus involutus* wydawał się grzybem tolerancyjnym na obecność wapnia w glebie (tab. 5.15)

KLUYPER (1988) uważa, że spadek produkcji owocników grzybów ektomikoryzowych po procesie wapnowania nie jest bezpośrednim efektem wpływu wapnia, lecz odzwierciedla raczej zwiększoną dostępność azotu mineralnego (zarówno amonowego, jak i azotanowego), który ma zdecydowanie hamujący wpływ na tworzenie mikoryz (patrz rozdział poprzedni).

#### 5.5.8.5. REAKCJE GRZYBÓW MIKORYZOWYCH I MIKORYZ NA PESTYCYDY

Od końca lat siedemdziesiątych ukazało się przeszło 150 prac mówiących o wpływie na mikoryzy różnych środków chemicznych (pestycydów), używanych w rolnictwie i leśnictwie przeciwko chorobom i szkodnikom. Środki te stosowane w celu zahamowania rozwoju chwastów (herbicydy), pasożytów grzybowych (fungicydy), owadów (insektycydy) lub nicieni (nematycydy), mogą niekiedy wywołać szereg nieprzewidywanych, ubocznych skutków biologicznych, często przewyższających zyski wynikające z ich zastosowania (TRAPPE i in. 1984). Tylko nieliczni badacze są zdania, że pestycydy stosowane w odpowiednich, zalecanych przez producentów stężeniach, nie wpływają hamująco na tworzenie mikoryz (AFSCHARPOUR i MEYER 1967), a niekiedy pewne substancje służące do odkażania gleby (fumiganty) mogą nawet stymulować wzrost krótkich korzeni mikoryzowych (LAIHO i MIKOLA 1964). Zdecydowana większość prac wykazuje, że pestycydy w zalecanych przez producentów stężeniach oddziałują negatywnie na grzyby mikoryzowe i mikoryzy, szczególnie na młodych siewkach. Wiele pestycydów w średnich i wysokich dawkach uniemożliwia penetrację strzępek grzybni do korzenia, powoduje destrukcję mufki grzybniowej, sieci HARTIGA, a nawet tkanek korzenia nie objętych mikoryzą, wywołując w efekcie zahamowanie wzrostu siewek (IYER i WILDE 1965; WILDE i PERSIDSKY 1966; IYER i TRAUTMANN 1967). ILOBA (1977; 1978) zaobserwował, że pewne fungicydy i insektycydy po-

wodują całkowity zanik charakterystycznych dla mikoryz sosny widlastych rozgałęzień korzeni.

Według niektórych autorów, negatywny wpływ pestycydów na formowanie się mikoryz ustępuje pod koniec drugiego sezonu wegetacyjnego i nie odbija się na dalszym wzroście drzew (HACSKAYLO i PALMER 1957; LINNEMAN 1968; SOBOTKA 1968).

TRAPPE i wsp. (1984) zestawili wyniki prac 70 autorów, którzy testowali w warunkach *in vitro* wpływ różnych grup pestycydów (fungicydy, herbicydy, insektycydy) na wzrost grzybów mikoryzowych. Większość tych substancji wykazuje tendencję do hamowania wzrostu grzybów ektomikoryzowych, szczególnie w wyższych stężeniach. Dotyczy to w szczególności fungicydów, które są przeznaczone do walki z grzybami i które szczególnie negatywnie oddziałują na mikoryzy. Kaptan i PCNB (pentachloronitrobenzen), zastosowane w Indiach przeciwko zgorzeli siewek w szkółkach, opóźniały formowanie się mikoryz na siewkach *Pinus patula*, aż do czasu utraty aktywności przez fungicyd (BAKSHI i DOBRIYAL 1970). W szkółkach *P. sylvestris* w Finlandii nie wykazano zmian w ektomikoryzach pod wpływem PCNB, choć substancja ta hamowała wzrost wielu grzybów w czystej kulturze (LAIHO i MIKOLA 1964). HONG (1976) obserwował na siewkach *P. caribea* w Malezji zahamowanie rozwoju ektomikoryz przez fungicydy chlorothalonil i thiran, pewną stymulację pod wpływem kaptafolu i kaptanu, a benomyl nie wywierał żadnego wpływu. THEODOROU i SKINNER (1976) wykazali hamowanie rozwoju mikoryz na szczepionych zarodnikami siewkach *P. radiata* w Australii pod wpływem fungicydów: kaptan, zineb i thiran. Fungicyd zastosowany w tym doświadczeniu do sterylizacji nasion uniemożliwił całkowicie rozwój szczepionych grzybów, ale nie miał wpływu na późniejszy rozwój mikoryz naturalnych. Systemowy fungicyd benodanil, stosowany na południu Stanów Zjednoczonych przeciwko wrzecionowatości pędów sosny, hamował wzrost czystych kultur grzybów ektomikoryzowych, a zastosowany w szkółkach hamował rozwój mikoryz na siewkach *P. taeda*. PAWUK i wsp. (1980) wykazali, że mikoryzy *Pisolithus tinctorius* na siewkach *P. palustris* niszczone były całkowicie przez PCNB, redukowane przez kaptan, a stymulowane przez benomyl. Benomyl i kaptan sprzyjały też rozwojowi mikoryz *Thelephora terrestris* i *Pisolithus tinctorius* na siewkach *P. taeda* (MARX i ROWAN 1981). Fungicyd Dithane M-45 (markozeb) zastosowany do sterylizacji gleby redukował rozwój mi-

koryz i wzrost siewek *P. sylvestris* (CUDLIN i in. 1983).

Z przedstawionego pokrótce przeglądu literatury wynika, że choć wiele fungicydów ma na mikoryzy wpływ negatywny, to istnieją i takie, na które grzyby mikoryzowe i mikoryzy wydają się stosunkowo niewrażliwe. Stwarza to dla leśników możliwość ich zastosowania w praktyce. Do najbardziej uderzających przykładów selektywnego oddziaływania fungicydów na różne grupy grzybów należą związki tiazolowe (benomyl, carbendazim, etridiazol, fuberidizol, tiabendazol) (TRAPPE i in. 1984). Substancje te wykazują silne antygrzybowe działanie w stosunku do grzybów należących do *Zygomycetes*, natomiast są znacznie mniej aktywne w stosunku do *Basidiomycetes* i *Ascomycetes*, skupiających większość grzybów mikoryzowych (EDGINGTON i in. 1971). Stąd właśnie związki tiazolowe mogą być fungicydami polecanymi do zastosowania w szkółkach, m.in. sosny w celu zapobiegania chorobom grzybowym bez niebezpieczeństwa jednoczesnego niszczenia mikoryz (KAIS i in. 1981; MARX i ROWAN 1981; PAWUK i in. 1980; PAWUK i BARNETT 1981). Herbicydy, których zadaniem jest usuwanie zbędnych roślin na plantacjach, mogą także wywołać szereg biologicznych skutków ubocznych (GREAVES i in. 1976; ALTMAN i CAMPBELL 1977; RODRIGUEZ-KABANA i CURL 1980; NORRIS 1981). Zestawienie wykonane przez TRAPPE i wsp. (1984) oparte na badaniach wielu autorów uwidacznia, że grzyby mikoryzowe i mikoryzy mogą być drastycznie uszkodzane przez pewne herbicydy. Następujące herbicydy powodowały destrukcję mikoryz *P. sylvestris*: alkohol allylowy (LAIHO i MIKOLA 1964), Amitrole (ILOBA 1976), 2,4-D (ILOBA 1978), Dalaphone (LAIHO i MIKOLA 1964; ILOBA 1976), TRIFLURALIN (ILOBA 1977), Gramoxone i Hexazinone (CUDLIN i in. 1983).

Drzewo może być często bardziej wrażliwe na zastosowane herbicydy niż grzyby mikoryzowe i z powodu jego osłabienia może następować rozregulowanie związku symbiotycznego (CUDLIN i in. 1983). Ma to miejsce szczególnie w przypadku herbicydów wpływających na zahamowanie fotosyntezy.

W konsekwencji ograniczenie formowania się nowych mikoryz następuje raczej na skutek zmniejszonego dopływu cukrów do korzeni, niż bezpośredniego wpływu herbicydu na sam grzyb. Choć niektóre grzyby mikoryzowe są również wrażliwe na pewne herbicydy i takie związki, jak gesaprim 50, gesatop 50 i maloran 50, zastosowane w stężeniach zwykle używanych w praktyce całkowicie hamowały wzrost *Suillus variegatus* i *Amanita muscaria* (GOGALA i in. 1982). Ostatnio wykazano, że niektóre grzyby mikoryzowe zdolne są do rozkładu pewnych herbicydów. ROUILLON i wsp. (1989) wykazali destrukcję herbicydu chloroprophan m.in. przez grzyby ektomikoryzowe *Hebeloma cylindrosporum*, *Suillus bellini* i *S. variegatus*.

W podsumowaniu należy podkreślić, iż używanie herbicydów w praktyce leśnej jest z ekonomicznego punktu widzenia znacznie mniej kosztowne niż tradycyjne metody ręczne i mechaniczne (ANONIM 1985c). Stosowanie herbicydów musi być jednakże poprzedzone niezwykle skrupulatnymi badaniami. Dzieje się tak np. w Kanadzie, gdzie w gospodarce leśnictwo odgrywa ogromną rolę (MALIK i VANDERNBORN 1986) i gdzie dopuszczone są do stosowania tylko dwa herbicydy: 2-4-D i glyphosate (CHAKRAVARTY i SIDHU 1987).

#### 5.5.9. ZASTOSOWANIE SYMBIOZY EKTOMIKORYZOWEJ W PRAKTYCE LEŚNEJ

Większość badań poświęconych szczepieniom (inokulacji) gleb leśnych grzybami ektomikoryzowymi opartych jest na dwóch przesłankach:

1. Jakakolwiek mikoryza na korzeniach siewek przeznaczonych do nasadzeń jest dużo lepsza niż żadna.

2. Pewne gatunki grzybów ektomikoryzowych są w określonych warunkach bardziej skutecznymi symbiontami drzew niż inne.

Przyjęcie tego drugiego założenia zmusiło badaczy do podjęcia zakrojonych na szeroką skalę badań nad selekcją grzybów ektomiko-

ryzowych o szczególnie pożądanym działaniu na wzrost i przeżywalność drzew na plantacjach oraz na terenach zdegradowanych. Konieczność selekcji wynika z tego, że grzyby ektomikoryzowe wykazują znaczne genetyczne i fizjologiczne zróżnicowanie zarówno między-, jak i wewnątrzgatunkowe (HO i ZAK 1979; HO 1987a; 1987b; GAY i DEBAUD 1987; ZHU i in. 1988; SEN 1990). Ponadto niektóre grzyby wydają się lepiej niż inne przystosowane do pewnych stanowisk, dlatego jest ogromnie ważne, aby przy zalesianiu używać siewek o skutecznych związkach mikoryzowych. Tymczasem w szkółkach, na skutek niektórych praktyk uprawowych, rozwój mikoryz na korzeniach jest często znacznie zahamowany. Do najgroźniejszych z punktu widzenia rozwoju ektomikoryz należy nawożenie, głównie azotowe oraz dezynfekcja gleby. Nawet jeżeli na silnie nawożonych glebach w szkółce siewki są dorodne, to są one na ogół zupełnie pozbawione mikoryz (MARX i in. 1977; LE TACON 1982). Wyjściem kompromisowym w tej sytuacji jest zastosowanie nawozów stopniowo się uwalniających, które pozwalają na uzyskanie stosunkowo dorodnych siewek, a nie hamują przy tym rozwoju mikoryz na korzeniach (MARONEK 1977). Wykazano, że nawozy takie zastosowane w dawce  $4,5 \text{ kg/m}^3$  nie hamowały tworzenia mikoryz na siewkach sosny z grzybem *Pisolithus tinctorius* (MARONEK i HENDRIX 1979). Z kolei sterylizacja gleby przed wysiewem nasion, stosowana rutynowo w wielu szkółkach leśnych, zwykle eliminuje lub drastycznie redukuje większość mikroorganizmów glebowych na głębokość 20 do 30 cm (MEXAL 1980; LE TACON i GARBAYE 1986). Obok patogenów, które zostają wyeliminowane z gleby, zabite zostają także organizmy pożądane, w tym grzyby mikoryzowe. Powtórna kolonizacja gleby przez mikroorganizmy niezbędne dla rozwoju siewek jest powolna, a niekiedy korzenie mogą zostać zdominowane przez symbionty, które nie są najskuteczniejsze z punktu widzenia rozwoju siewki. W lesie ma oczywiście miejsce infekcja naturalna, która odbywa się głównie za przyczyną ektomikoryzowych grzybów wyt-

warzających owocniki. Z owocników tych wydobywają się zarodniki, które mogą być przenoszone na znaczne odległości. Stąd jesienią, kiedy pojawiają się owocniki, stwierdza się znaczne ilości zarodników w powietrzu. Do tej pory roku ograniczona więc jest infekcja naturalna. Tymczasem wiele szkółek dezynfekowanych jest wiosną, na kilka tygodni przed wysiewem nasion. Brak spor grzybów mikoryzowych w powietrzu w tym czasie może prowadzić do nieprawidłowych związków mikoryzowych. Na szczęście *Thelephora terrestris*, grzyb który jest wyjątkowo przywiązany do warunków panujących w szkółkach, produkuje zarodniki pod koniec wiosny i on właśnie jest pierwszym symbiontem ektomikoryzowym w szkółkach, choć na pewno nie jest symbiontem najskuteczniejszym z punktu widzenia rozwoju siewki (LE TACON i in. 1987). Dlatego w szkółce, po procesie odkażania, konieczne jest szczepienie gleb grzybami ektomikoryzowymi (MARX i BRYAN 1975; LE TACON 1982; LE TACON i GARBAYE 1986). Szczepienia mają na celu przyspieszenie procesu rekolonizacji środowiska glebowego, a przede wszystkim ukierunkowanie tworzenia mikoryz z wyselekcjonowanymi grzybami ektomikoryzowymi. Badania nad zastosowaniem techniki szczepienia gleb w praktyce leśnej rozpowszechnione są szczególnie w USA (MARX i CORDELL 1988; MARX i in. 1991), Francji (LE TACON i in. 1988) i Kanadzie (LALONDE i PICHE 1988).

W praktyce leśnej stosuje się obecnie kilka różnych metod szczepienia gleb grzybami ektomikoryzowymi (TRAPPE 1977).

#### 5.5.9.1. SZCZEPIENIE GLEB SZCZEPIONKĄ NATURALNĄ ZAWIERAJĄCĄ ZARODNIKI, GRZYBNIĘ MIKORYZOWĄ I MIKORYZY

Do najwcześniej stosowanych metod wprowadzania grzybów ektomikoryzowych do gleb leśnych należy zastosowanie naturalnego podłoża pochodzącego z lasu, plantacji czy szkółki, gdzie z reguły znajdują się zarodniki, grzybnia i mikoryzy. Pierwsze próby wprowadzania sosny do Afryki rozpoczęto w Afryce Południowej w połowie XIX wieku.

Nie odnotowano sukcesu tak długo, dopóki nie domieszano gleby pobranej ze szkółki w Holandii, zawierającej bez wątpienia grzyby ektomikoryzowe.

Odtąd stało się to regularną praktyką na plantacjach sosnowych w Afryce (LE TACON i in. 1987). W roku 1910 podłoże zakażone naturalną szczepionką glebową przeniesiono z Południowej Afryki do Kenii, a potem rozprowadzono po całym kontynencie (GIBSON 1963). Jeszcze teraz sposób ten bywa stosowany, gdy istnieje konieczność wprowadzenia populacji leśnych mikroorganizmów glebowych na tereny, które są ich pozbawione (gleby porolne, nieużytki przemysłowe, stepy, prerie).

Głównym zastrzeżeniem tej metody szczepienia gleby jest ryzyko mimowolnego wprowadzenia różnych patogenów lub grzybów trujących. W ten sposób zawleczony został z Europy do Południowej Afryki i Ameryki śmiertelnie trujący muchomor sromotnikowy (*Amanita phalloides*) (MIKOLA 1970). Znaczne ryzyko niesie za sobą również przenoszenie gleby z jednej szkółki do drugiej. Stare szkółki bywają z reguły zakażone patogenami wywołującymi pasożytniczą zgorzel siewek, jak *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. czy *Phytophthora* sp. Choroba ta jest groźna dla siewek sosnowych rosnących w szkółce do około szóstego miesiąca ich życia.

Odcięte korzenie mikoryzowe bądź siewki z ukształtowaną już mikoryzą są również stosowane do szczepienia nowych szkółek leśnych. Sposób z zastosowaniem siewek mikoryzowych wypróbowany został po raz pierwszy w Indonezji i jest nadal tam wykorzystywany (MIKOLA 1970). Metoda ta, zwana indonezyjską, polega na tym, że młode siewki w szkółce wchodzą w kontakt mikoryzowy za pośrednictwem grzybów znajdujących się na korzeniach wprowadzonych do szkółki sadzonek (VAN ALPHEN DE VEER 1955). Ponieważ grzyby mikoryzowe tworzą w glebie skomplikowany system sznurów grzybnionych, rozprzestrzenianie mikoryzy od jednej siewki do drugiej odbywa się dość szybko. Technika ta nie różni się wiele od metody stosującej jako źródło inokulum glebę pochodzącą spod drzew z obfitą mikoryzą, a ryzy-

ko wprowadzenia patogenów i grzybów trujących jest w niej podobne.

#### 5.5.9.2. SZCZEPIENIE ZA POMOCĄ OWOCNIKÓW I ZARODNIKÓW

W Europie zastosowano w leśnictwie po raz pierwszy owocniki grzybów ektomikoryzowych do szczepienia gleby w szkółce Wareham Heath w Anglii. Owocniki grzyba *Rhizopogon luteolus* wprowadzono do gleby naturalnie zakażonej innym grzybem mikoryzowym *Suillus bovinus*, z którym jednak siewki nie wchodziły w mikoryzę. Choć gleba nie była uprzednio dezynfekowana, zaszczepienie spowodowało poprawę wzrostu szeregu gatunków drzew w tym *Pinus nigra* (LEVI-SOHN 1956).

W Australii, w celu intensyfikacji tworzenia mikoryz oraz poprawy wzrostu siewek, mieszano nasiona *P. radiata* z zarodnikami grzybów z rodzaju *Rhizopogon* i *Suillus* (THEODOROU 1971b; THEODOROU i BOWEN 1973; LAMB i RICHARDS 1974a; 1974b).

Najwięcej prac nad zastosowaniem zarodników jako materiału do szczepienia gleb leśnych wykonał MARX ze współpracownikami z Instytutu Badań Mikoryzowych w Athens w USA. Stosowano albo świeżo pozyskane zarodniki, które wprowadzano do odczążonej gleby, albo specjalnie preparowano nasiona przez pokrycie ich cienką warstwą zarodników oraz substancji ułatwiających ich przyleganie do nasion (otoczkiwanie) (MARX i in. 1984a; 1984b; MARX i BELL 1985). Większość prac tych autorów poświęcono jednemu gatunkowi grzyba – *Pisolithus tinctorius*, ze względu na jego znaczny zasięg geograficzny, wielość gospodarzy, tolerancję na różne stresy środowiska oraz łatwość hodowli w czystych kulturach. Otoczkiwanie nasion zarodnikami mogłoby być doskonałą techniką zwiększania populacji ektomikoryz w przypadku tych grzybów, które produkują znaczne ilości zarodników, łatwych do pozyskania. Jednakże tylko pewne gatunki, jak *Thelephora terrestris*, *Pisolithus tinctorius* i *Rhizopogon* sp. mogą być stosunkowo łatwo wprowadzane do gleby tą techniką. Inne gatunki z różnych względów (niewielka licz-

ba owocników, niewielka żywotność zarodników) nie nadają się do rozpowszechniania w ten sposób.

#### 5.5.9.3. SZCZEPIENIE CZYSTYMI KULTURAMI GRZYBÓW MIKORYZOWYCH

Aby uniknąć ryzyka wprowadzania wraz z grzybami mikoryzowymi organizmów chorobotwórczych, stosuje się metodę szczepienia gleb czystymi kulturami grzybów mikoryzowych. Metoda ta pozwala na wprowadzenie do gleby wybranych grzybów ektomikoryzowych o właściwościach przewyższających niekiedy naturalne symbionty obecne w glebie. Technikę izolacji oraz hodowli grzybni ektomikoryzowej w czystych kulturach wprowadził MELIN (1936). Jednakże technika szczepienia czystymi kulturami grzybów ektomikoryzowych ma również pewne ograniczenia, bo choć wiele symbiontów rośnie dobrze na sztucznych podłożach, to istnieje też wiele grzybów, które trudno izolować z owocników, a następnie utrzymać w czystej kulturze. Do tych, które nie rosną lub rosną bardzo słabo na standardowych pożywkach należą grzyby z rodzaju *Russula*, *Lactarius*, *Cortinarius*, *Inocybe* i *Tuber*. Niektóre z nich są prawdopodobnie bardzo efektywnymi symbiontami.

Istnieją dwie metody produkcji czystych kultur grzybów mikoryzowych na dużą skalę.

##### 5.5.9.3.1. Hodowla na stałym podłożu

Technikę tę zapoczątkował w roku 1954 BOKOR na Węgrzech, a następnie podjęli ją MOSER w Austrii (1958) i TAKACS w Argentynie (1967). Polega ona na hodowli mycelium wybranych grzybów mikoryzowych na płynnej pożywce, a następnie zaszczerpieniu tak rozrośniętej grzybni na sterylne podłoże stałe, najczęściej torf (niekiedy zmieszany z perlitem lub wermikulitem) nasączony pożywką. Po 2 miesiącach od inokulacji podłoże przerośnięte grzybnią miesza się ze sterylną, wilgotną glebą, pozostawia na 3 tygodnie, po czym stosuje do szczepienia gleby w szkółce. Z dużym powodzeniem technikę tę stosuje się w Austrii do szczepienia siewek *Pinus cembra* szczepionką zawierającą grzybnię *Boletus plorans*. Grzyb ten jest symbiontem limby na dużych wysokościach, blisko granicy lasu, natomiast brak go na ogół w dolinach, gdzie

umiejszczone są szkółki. Zaszczepienie siewek *P. cembra* tym symbiontem ogromnie poprawia efektywność nasadzeń na stanowiskach naturalnych w Alpach (MOSER 1963).

Badania nad produkcją wegetatywnego mycelium rozrośniętego na stałym podłożu podjęte zostały na największą skalę w USA przez MARXA i współpracowników (MARX i in. 1982; MARX i KENNEY 1984; MARX i in. 1984a; 1984b; MARX 1991). Dotyczyły głównie jednego symbionta, wspomnianego już wcześniej gatunku *Pisolithus tinctorius*. Po etapie doświadczeń w laboratorium autorzy rozpoczęli wytwarzanie grzybni na dużą skalę w specjalnie do tego zaadaptowanych fermentatorach, a ich produkt obdarzony handlowym znakiem MycoRhiz produkowany jest w USA na dużą skalę (MARX i KENNEY 1984).

##### 5.5.9.3.2. Mycelium hodowane w fermentatorach i otoczkowane w postaci granulek

Sukcesami w tej dziedzinie przemysłowej produkcji szczepionki mogą pochwalić się Francuzi. W szkółkach hodowlanych szereg gatunków drzew, w tym także *P. sylvestris*, szczepi się wegetatywnym mycelium, głównie gatunków *Laccaria laccata*, *L. bicolor* i *Hebeloma crustuliniforme*. Metoda produkcji mycelium do zaszczerpienia jest we Francji podobna w pierwszej fazie do stosowanej w USA. Grzybnia hodowana jest w sterylnych warunkach na płynnej pożywce w fermentatorach i po rozrośnięciu przemysłowa w celu usunięcia nadmiaru pokarmów, które mogłyby utrudnić nawiązywanie mikoryz i sprzyjać rozwojowi organizmów chorobotwórczych. Następnie grzybnia jest formowana w niewielkie granulki, które otacza się preparatem stanowiącym mieszaninę torfu i substancji żelującej (alginian sodu). Tak uformowana szczepionka jest łatwiejsza do przechowywania, lepiej chroniona przed ewentualnym zakażeniem i bardziej skuteczna do zaszczerpienia w szkółkach niż opisana wcześniej grzybnia rozrośnięta na wermikulicie lub torfie i przechowywana w workach plastikowych (LE TACON i in. 1983; 1987).

Na podstawie metody francuskiej, również w Czechosłowacji rozpoczęto produkcję inokulum grzybowego polecanego do zaszczerpienia siewek w szkółkach (KROPAČEK 1989). Mycelium grzybowe jest otoczkowane alginianem sodu oraz wiązane z perlitem i silikonem jako nośnikami. Tak spreparowana grzybnia *Laccaria laccata* jest szczególnie polecana przez autorów do zastosowania w szkółkach *P. sylvestris*.



#### 5.5.9.4. ZASTOSOWANIE SZCZEPIENIA GRZYBAMI EKTOMIKORYZOWYMI W LEŚNICTWIE

Obecnie w różnych krajach prowadzi się doświadczenia nad zastosowaniem techniki szczepienia gleb leśnych w szkółkach bądź szczepieniem pojedynczych osobników w kontenerach. Potwierdziły one, że użycie szczepionek zawierających czyste kultury grzybów ektomikoryzowych umożliwia wprowadzenie bardziej skutecznych niż naturalne symbiontów mikoryzowych i poprawia wzrost siewek przy jednoczesnym wykluczeniu ryzyka wprowadzenia patogenów glebowych. Kilka zaledwie doświadczeń przeprowadzono nad sztuczną inokulacją sosny zwyczajnej. W porównaniu z infekcją naturalną grzybem *Thelephora terrestris* sztuczne szczepienie czystymi kulturami grzybów *Laccaria laccata*, *Hebeloma cylindrosporum* i *H. crustuliniforme* poprawiało wzrost siewek sosny zwyczajnej w szkółkach centralnej Francji w okresie pierwszych dwóch lat od wysiewu (LE TACON i BOUCHARD 1986). Zastosowanie odpowiednich grzybów mikoryzowych pozwala uzyskać siewki o właściwych parametrach wzrostowych o 1 do 2 lat wcześniej, niż w warunkach naturalnych bez sztucznych zaszczepeń. W innym doświadczeniu, również przeprowadzonym we Francji, siewki *Pinus nigra* subsp. *nigricans* zaszczepeione w doniczkach grzybem *Hebeloma crustuliniforme* i *Paxillus involutus* rosły znacznie lepiej niż siewki tworzące mikoryzę z typowym grzybem okresu juwenilnego sosny *Thelephora terrestris* (GARBAYE i LOPEZ cyt. LE TACON i in. 1987).

Zakrojone na największą skalę doświadczenia ze szczepieniem gleb grzybami ektomikoryzowymi prowadzi się w USA. Dotyczą one prawie wyłącznie opisywanego już wiele razy uniwersalnego symbionta *Pisolithus tinctorius*, którego jako szczepionkę testowano z różnymi gatunkami sosny m.in. *P. taeda*, *P. elliottii*, *P. echinata*, *P. clausa*, *P. virginiana*, *P. palustris*, *P. ponderosa*, *P. strobus* i *P. resinosa* (MARX i in. 1982; 1984a; 1984b). Wieloletnie doświadczenia przeprowadzone w szkółkach na terenie 25 stanów USA wy-

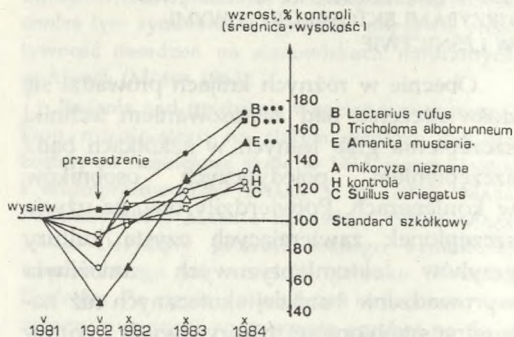
kazały w ponad 80% przypadków dodatni wpływ szczepień na wzrost i rozwój testowanych sosen. Podobnym sukcesem zakończyły się doświadczenia nad szczepieniem grzybem *Pisolithus tinctorius* siewek sosny w kontenerach.

Od roku 1973 rozpoczęto w USA zakrojone na ogromną skalę doświadczenia nad zastosowaniem szczepionki grzybów mikoryzowych do inokulacji sosny wysadzonej na stanowiskach zniszczonych przez przemysł, głównie górniczy (MARX i RUEHLE 1989). Badania te wykazały, że specyficzne związki mikoryzowe mogą mieć decydujące znaczenie dla wzrostu i przeżywalności sosny na zdegradowanych stanowiskach po kopalniach węgla, miedzi czy wapieni. Ponownie okazało się, że mikoryza tworzona przez różne gatunki sosny z grzybem *Pisolithus tinctorius* jest znacznie efektywniejsza od mikoryz naturalnych (głównie tworzonych przez *Thelephora terrestris*). Niektóre doniesienia wskazywały, że udatność nasadzeń i związany z tym przyrost masy drewna był o 250% wyższy, kiedy zastosowano siewki ze szkółek lub kontenerów z obfitą mikoryzą formowaną przez *Pisolithus tinctorius*, a uzyskaną drogą szczepienia za pomocą zarodników lub grzybni. Grzybnia okazywała się na ogół znacznie efektywniejsza niż zarodniki (MARX i BRYAN 1975).

Oprócz grzyba *Pisolithus tinctorius* również kilka innych gatunków testuje się w celu wykorzystania do inokulacji drzew leśnych, m.in. sosny w różnych częściach świata. Najczęściej są to gatunki: *Amanita muscaria*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Lactarius rufus*, *Rhizopogon luteolus*, *R. roseolus*, *Suillus luteus*, *S. granulatus*, *S. variegatus*, *Tricholoma albobruneum* (MARX i RUEHLE 1989).

Nie mniej ważna od kondycji siewek w szkółce jest też ich przeżywalność po przeniesieniu na stanowisko stałe. Również i w tym przypadku sadzonki szczepione odpowiednimi grzybami mikoryzowymi okazały się bardziej żywotne, niż te z mikoryzą naturalną. Sosna po przesadzeniu ze szkółki na stanowisko stałe bardzo często wykazuje zahamowanie wzrostu wywołane tzw. stresem transplantacyjnym, powodowanym uszkodzeniami korzeni i związaną z tym suszą fizjologiczną, ata-

kiem patogenów i owadów. Czynniki te mogą nakładać się na niekorzystny stan fizjologiczny rośliny, która na nowym stanowisku znajduje się w warunkach niekiedy skrajnie odmiennych od szkółkowych. Wysokie nawożenie szkółek powoduje, że siewki są duże, ale na ogół całkowicie pozbawione mikoryz lub z mikoryzami tworzonymi tylko przez grzyby przystosowane do takich warunków odżywczych. Często są to symbionty ektendomikoryzowe. Po przesadzeniu, w większości przypadków na ubogie stanowiska w lesie, mikoryzy takie wycofują się, gdyż nie znajdują dla siebie odpowiednich warunków do wzrostu (głównie wysokiego poziomu azotu). STENSTRÖM i in. (1986) przeprowadzili badania nad wpływem kontrolowanych szczepień mikoryzowych w warunkach niskiego nawożenia w szkółce na wzrost sadzonek sosny po przeniesieniu ich na stanowisko stałe i porównali do wzrostu tzw. „standardu szkółkowego” (sosna nieinokulowana sztucznie, tylko infekcja naturalna, wysokie nawożenie). Siewki *P. sylvestris* zaszczerpione grzybami ektomikoryzowymi w warunkach bardzo niskiego nawożenia w pierwszym roku po wysiewie rosły gorzej niż standard szkółkowy, ale już w następnym roku wszystkie wyglądały lepiej i po 2,5 latach od przesadzenia na stanowisko stałe wszystkie inokulowane uprzednio sadzonki przerosły standard szkółkowy o 20 do 75% (ryc. 5.41). Wynika z tego, że niskie nawożenie w powiązaniu z inokulacją mikoryzową mogą znacznie poprawić udatność nasadzeń, a szczególnie wspomóc rośliny w pierwszym roku, najbardziej niebezpiecznym dla przeżywalności sadzonek po przeniesieniu ich na stanowisko stałe. Trzeba dodać, że choć często mikoryza zaszczerpiona jest zastępowana mikoryzą naturalną, to dodatni wpływ tej pierwszej utrzymuje się co najmniej przez trzy lata. Przedstawione doświadczenie wskazuje także na większą skuteczność jednych gatunków (tutaj *Lactarius rufus* i *Tricholoma albobrunneum*) nad innymi (*Suillus variegatus*). Lepszy wzrost siewek zaszczerpionych grzybami mikoryzowymi może być spowodowany skuteczniejszym wykorzystaniem będących w niedoborze składników pokarmowych oraz podwyższoną dzięki mikoryzie odpornością na patogeny. Szczepy grzybów, które najskuteczniej stymulują wzrost siewek, po ich przesadzeniu na stanowisko stałe nie są koniecznie najlepszymi symbiontami siewek sosny w jej najwcześniejszym okresie rozwoju – od wysiewu do końca pierwszego roku. W tym okresie siewki zaszczerpione i słabo nawożone rosły gorzej niż normalnie nawożony standard szkółkowy (ryc. 5.41).



Ryc. 5.41. Długoterminowy wpływ szczepienia grzybami mikoryzowymi oraz niskiego nawożenia na wzrost *Pinus sylvestris* w szkółce i na plantacji. Sosna rosła przez 1 rok w szkółce i przez ponad 2 lata na plantacji. Wzrost (średnica x wysokość) nisko nawożonych sadzonek, zaszczerpionych różnymi grzybami mikoryzowymi oraz niezaszczerpionej kontroli porównano z tzw. standardem szkółkowym (niezaszczerpionym, wysokie nawożenie) (wg STENSTRÖM i in. 1986)

#### 5.5.9.5. POLSKIE DOŚWIADCZENIA NAD OPRACOWANIEM SZCZEPIONKI DO INOKULACJI SOSNY W SZKÓŁKACH I NA PLANTACJACH

W Polsce prof. ROMAN PACHLEWSKI podjął próby opracowania i wdrożenia szczepionki grzybowej, którą można by zastosować w leśnictwie (1983). W obszernym opracowaniu pt.: „Grzyby symbiotyczne i mikoryza sosny” (1983) przedstawił m.in. wyczerpująco dane na temat oddziaływania ektomikoryz na wzrost siewek i sadzonek sosny oraz wskazał na konieczność selekcji grzybów mikoryzowych przed ich użyciem do szczepień.

Prace nad szczepieniem siewek sosny przeprowadził PACHLEWSKI w doświadczeniach wazonowych oraz w szkółce. Obserwacje z doświadczeń wazonowych przy użyciu gleby leśnej wykazały, że mikroflora środowiska glebowego stwarza barierę biologiczną dla grzybów inokulowanych do gleby. Istnieją grzyby mikoryzowe mające większą lub mniejszą zdolność przełamania tej bariery, adaptacji i wejścia w zespoły mikroorganizmów glebowych wraz z nawiązywaniem ektomikoryz z korzeniami sosny. Na 17 gatunków grzybów użytych do inokulacji tylko 5 wykazywało właściwości tworzenia efektywnych mikoryz. Najlepsze rezultaty uzyskano w doświadczeniu wazonowym z grzybami *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*

ta, *Lactarius rufus*, *Suillus luteus* i *Tricholoma terreum*; z pozostałych na uwagę zasługiwał grzyb *Amanita citrina*.

W całej dość obszernej literaturze dotyczącej inokulacji siewek sosny, tylko PACHLEWSKI (1983) zwrócił uwagę na bardzo istotną relację pomiędzy grzybami ektomikoryzowymi a symbiozą typu ektendomikoryzowego. Chodzi o to, że pierwszą fazą współzycia mikoryzowego siewek sosny w jej młodocianym okresie (szczególnie w szkółce) jest ektendomikoryza tworzona przez grzyby należące do *Ascomycetes* (PACHLEWSKI i KOCOŃ 1985). Grzyby te odznaczają się dużą aktywnością i wirulencją mikoryzową oraz specyficznymi właściwościami symbiotycznymi, ekologicznymi i morfogennymi. Udatność inokulacji siewek sosny określonymi symbiontami ektomikoryzowymi zależy w znacznym stopniu od ich reakcji w stosunku do symbiontów ektendomikoryzowych. PACHLEWSKI (1983) wykazał, że gatunki, które użyte do inokulacji sosny w wazonach dały pozytywne rezultaty, mają w większości charakter antagonistyczny względem ektendomikoryzowego szczepu grzyba MrgX.

Podobnie, jak w teście *in vitro*, w doświadczeniu wazonowym niektóre gatunki wyraźnie stymulowały wzrost siewek sosny po wejściu z nią w związki mikoryzowe, np. *Amanita citrina*, *Hebeloma crustuliniforme* czy *Tricholoma terreum* (tab. 5.16).

PACHLEWSKI podkreśla, że w porównaniu z biotestem mikoryzowym w czystych kulturach na agarze, doświadczenie wazonowe ze szkółkową glebą leśną jako substratem dla wzrostu sosny, zawiera więcej czynników wpływających na przebieg reakcji mikoryzowej (czynniki edaficzne i mikrobiologiczne), które powodują, że formowanie się mikoryz przebiega wolniej i w zależności od grzyba rozpoczyna się po upływie 1-2,5 lat od inokulacji.

Do inokulacji wazonowych PACHLEWSKI używał trzech rodzajów szczepionek przygotowanych ze sterylnej grzybni hodowanej na: 1) pożywce agarowej, 2) torfie ogrodniczym z dodatkiem pożywki płynnej, 3) pożywce płynnej. Ta ostatnia metoda, tj. hodowla kultur na pożywce płynnej i przygotowanie z tego szczepionki w postaci wodnej zawiesiny grzybni wegetatywnej, dała najlepsze wyniki w postaci największej liczby pozytywnych skojarzeń mikoryzowych.

PACHLEWSKI przeprowadził także próby inokulacji gleby grzybnią mikoryzową w szkółce. Udatność tych szczepień była zróżnicowana w zależności od gatunku grzyba. Stosunkowo dobre efekty, podobnie jak w doświadczeniach wazonowych, uzyskano z grzybami *Hebeloma crustuliniforme*, *Lactarius rufus* i *Laccaria laccata*.

Tabela 5.16

Wpływ szczepienia czystymi kulturami grzybów mikoryzowych na wzrost siewek *Pinus sylvestris* w doświadczeniu wazonowym (wg PACHLEWSKIEGO 1983)

Gatunek grzyba	Wysokość części nadziemnej siewek* (w cm)
<i>Amanita citrina</i>	15,4
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	14,1
<i>Tricholoma terreum</i>	15,8
Kontrola (niezaszczepiona)	11,1

\* Średnia z pomiarów 10 siewek.

Tabela 5.17

Wysokość\* sadzonek *Pinus sylvestris* zaszczerpionych grzybami mikoryzowymi w szkółce i wysadzonych w uprawę leśną (po 3 latach od wysadzenia), (wg PACHLEWSKIEGO 1983)

Gatunek grzyba	Wysokość części nadziemnej sadzonek (w cm)
<i>Amanita muscaria</i>	143
<i>Suillus luteus</i>	145
<i>Suillus bovinus</i>	127
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	129
Kontrola (niezaszczepiona)	122

\* Średnia z pomiarów 50 sadzonek.

Ostatnim etapem doświadczeń były obserwacje wzrostu oraz rozwoju mikoryz na sadzonkach sosny szczepionych w szkółce po wysadzeniu ich w uprawę. Na ogół, w zależności od gatunku grzyba użytego do inokulacji, infekcja ektomikoryzowa poszerzała sukcesywnie swój zasięg na systemach korzeniowych sadzonek, przy czym najlepsze efekty obserwowano z grzybem *Hebeloma crustuliniforme*. Pomiar wysokości części nadziemnej 3-letnich sadzonek nieszczepionych oraz szczepionych wskazywały na stymulację wzrostu tych ostatnich (tab. 5.17). Stymulacja wzrostu szczególnie wyraźnie zarysowała się u sadzonek szczepionych grzybami *Suillus luteus* i *Amanita muscaria*. PACHLEWSKI (1983) zwraca uwagę na konieczność intensyfikacji badań dotyczących szczepień mikoryzowych jako czynnika mogącego ulepszyć technologię produkcji doborowego materiału sadzeniowego sosny w szkółkach, namiotach foliowych i kontenerach.

## 5.5.10. EKTENDOMIKORYZA SOSNY

Na siewkach sosny ze szkótek leśnych od dawna obserwowano dominację związku symbiotycznego o cechach ektendomikoryzowych (RAYNER 1934; BJÖRKMÄN 1942; LEVISHON 1954). Ektendomikoryzy sosny zwyczajnej charakteryzują się na ogół rozbudowaną siecią HARTIGA, wnikaniem grzybni do wnętrza komórek kory pierwotnej korzenia oraz brakiem lub bardzo cienką muflą grzybnową. Występują szczególnie obficie na siewkach sosny w szkótkach, utworzonych na glebach będących przednio użytkowanych rolniczo (LAIHO i MIKOLA 1964). Ektendomikoryzy wydają się typowe dla sosny, gdyż w tych samych warunkach wzrostu siewki świerka wykształcają typową ektomikoryzę.

Do charakterystycznych oznak powstawania ektendomikoryz należy formowanie się sieci HARTIGA w dużej bliskości merystemu wierzchołkowego korzenia. Jednocześnie obserwuje się wnikanie komórek grzyba do wnętrza komórek korzenia i to tym obficie, im większa jest odległość od wierzchołka. W efekcie starsze komórki kory pierwotnej zostają niemal całkowicie wypełnione strzępkami grzybni o grubości dochodzącej do 15  $\mu\text{m}$ . Korzenie zainfekowane w ten sposób przeżywają przynajmniej rok niemalże bez oznak degeneracji czy rozpuszczania strzępek grzybnowych (MIKOLA 1965). Komórki kory pierwotnej korzenia zainfekowane przez grzyb ektendomikoryzowy także nie ulegają degeneracji, jądro jest dobrze widoczne, protoplast żywy. MIKOLA (1965) wyizolował ze szkótek *P. sylvestris* w Finlandii 150 szczepów grzyba tworzącego ektendomikoryzę i nazwał go szczepem E sądząc, że wszystkie te izolaty należą do jednego gatunku. Grzybnia powietrzna tego grzyba była brązowa, strzępki z przegrodami poprzecznymi o grubości 4-9  $\mu\text{m}$ , bez sprzążek, konidiów czy organów rozmnażania. Grzybnia substratowa była przezroczysta, często produkująca nabrzmienia przypominające chlamydospory o średnicy 30  $\mu\text{m}$ . W czystej kulturze szczepy tego grzyba wykazywały optimum wzrostu przy pH 5-6, rosły dobrze na glukozie, sacharozie, a niekiedy wykorzystując także skrobię. Celuloza nie była rozkładana przez szczepy typu E. Pod względem zapotrzebowania na azot, szczepy grzyba ektendomikoryzowego przypominały bardzo grzyby ektomikoryzowe. Wszystkie te fakty nie pozwalają wytlumaczyć wyjątkowej pozycji tego grzyba w mikoryzie sosny. Nie potrafiono przede wszyst-

kim wyjaśnić, dlaczego ten grzyb wchodzi tak łatwo do wnętrza komórek gospodarza, a nie ogranicza się do związku o cechach ektomikoryzowych (HARLEY i SMITH 1983b).

Początkowo sądzono, że ektendomikoryzy tworzone przez szczep E mają w naturze zasięg raczej ograniczony. Później okazało się, że szczep E występuje u wielu gatunków drzew iglastych i liściastych w szkótkach oraz na siedliskach po wypalonych lasach zarówno w Europie, jak i USA, tworząc ektendomikoryzę bądź ektomikoryzę w zależności od gospodarza, z którym wchodzi w symbiozę (MIKOLA 1965; LAIHO 1965; WILCOX i in. 1974; 1983; MIKOLA 1988). LAIHO (1965) obserwował formowanie się ektendomikoryz pomiędzy szczepem E i różnymi gatunkami sosny, także w sterylnych kulturach. WILCOX (1968) wykazał, że ektendomikoryzy podobne do tych, jakie opisano dla *P. sylvestris* występują powszechnie w szkótkach na siewkach *P. resinosa*. Jeden z dwóch grzybów wyizolowanych z tych ektendomikoryz i oznaczony jako BDG-58, przypominał szczep E wyizolowany przez MIKOLĘ w Finlandii z siewek *P. sylvestris*.

W Polsce po raz pierwszy ektendomikoryza dokładnie opisana została przez PACHLEWSKIEGO i PACHLEWSKĄ (1971). Wyizolowali oni szereg szczepów tworzących ektendomikoryzę z jedno- i dwuletnich siewek sosnowych ze szkótek leśnych na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego. Ektendomikoryzy te były zawsze dichotomicznie rozgałęzione, zgrubiałe lub wydłużone, białokremowe do brązowych. W czystych kulturach grzybnia rosła wolno, tworząc ubogą grzybnię powietrzną i silnie rozrastającą się grzybnię substratową. Synteza mikoryzowa w czystych kulturach pomiędzy izolatami ektendomikoryzowymi a siewkami sosny wykazała dużą aktywność mikoryzową badanych grzybów, przejawiającą się częstym występowaniem infekcji wewnątrzkomórkowej komórek kory pierwotnej korzenia oraz bardzo silnie wykształconą siecią HARTIGA. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji autorzy uznali, że nie można odpowiedzieć na pytanie czy ektendomikoryzy siewek sosny są zjawiskiem stałym, czy też są tylko przejściową, początkową fazą w procesie tworzenia się mikoryzy ektotroficznej z tym grzybem. W testach obejmujących kultury dwugrzybowe (PACHLEWSKI 1983) pomiędzy szczepem ektendomikoryzowym a siedmioma gatunkami typowych grzybów ektomikoryzowych występowało głównie oddziaływanie antagonistyczne, szczególnie w stosunku do *Suillus bovinus* i *S. variegatus*. Porównując wyniki przeprowadzonych syntez mikoryzowych pomiędzy sosną i wieloma innymi grzybami ekto-

mikoryzowymi PACHLEWSKI i PACHLEWSKA (1971) stwierdzili, że ektendomikoryzowy typ symbiozy uzależniony jest wyłącznie od właściwości fizjologicznych grzyba i często wpływa ujemnie na rozwój siewek sosny. Podobny pogląd wyrażali też RAYNER (1934) i LEVISCHN (1963). Z kolei MIKOŁA (1965) nie stwierdził istotnych różnic we wzroście siewek bez mikoryz lub z ektendomikoryzą. LAIHO (1965) natomiast, badając wpływ szczepu E na różne gatunki sosny zaobserwował znaczący, pozytywny wpływ inokulacji tym grzybem na wzrost badanych siewek, które okazywały się często 2 do 3 razy większe niż niezaszczepiona kontrola (tab. 5.18). Zaszczepione siewki były także żywo zielone i bardzo zdrowe, podczas gdy kontrola wykazywała pewne symptomy żółknięcia.

W wyjaśnieniu istoty związku ektendomikoryzowego zaznacza się brak szczegółowych badań o charakterze fizjologiczno-biochemicznym. Pewne testy przeprowadzone zostały na wyizolowanym

Tabela 5.18

Wpływ szczepienia ektendomikoryzowym szczepem „E” na ciężar części nadziemnej 5,5 – miesięcznych siewek sosny (2-3 miesiące po zaszczepieniu) (wg LAIHO 1965)

Gatunek sosny	Ciężar części nadziemnej	
	w mg	w % powyżej kontroli
<i>Pinus edulis</i>	210	138
<i>P. ponderosa</i>	180	122
<i>P. radiata</i>	193	101
<i>P. sylvestris</i>	86	307
<i>P. strobus</i>	118	171

przez PACHLEWSKIEGO szczepie, który nazwany został przez autora MrgX (*Mycelium radices* grupa X). Stwierdzono m.in., że ektendomikoryzowy MrgX wykazuje dość wszechstronną aktywność enzymatyczną, rozkładając skrobię, mocznik, pektynę i tyrozynę (PACHLEWSKI i CHRUŚCIAK 1979; 1980). Dużym zaskoczeniem była też wysoka aktywność celulolityczna MrgX, co wskazywałoby na zdolność tego grzyba do rozkładu związków będących komponentami ścian komórkowych i mogłoby rzucić pewne światło na przyczynę infekcji wewnątrzkomórkowej. Wykonane ostatnio badania nad produkcją auksyny (IAA) (RUDAWSKA i GAY 1989; 1992) wykazały, że pod względem produkcji tego hormonu MrgX wykazuje właściwości podobne do takich symbiontów ektomikoryzowych, jak *Suillus bovinus* i *Rhizopogon luteolus*, uważanych za bardzo dob-

rych producentów kwasu indolilo-3-octowego (RUDAWSKA 1981; 1983). Stwierdzono także, że szczep MrgX odznacza się bardzo aktywnym systemem dehydrogenazy glutaminianowej (GDH), enzymu odpowiedzialnego za szybkie włączanie jonu amonowego do związków organicznych. W porównaniu z typowymi symbiontami ektomikoryzowymi aktywność GDH była wielokrotnie wyższa (RUDAWSKA i KIELISZEWSKA 1992). Dane te rzucają pewne światło na wyjątkową pozycję szczepów ektendomikoryzowych w symbiozie sosny. Wydaje się, że pozycja ta jest w dużym stopniu zdeterminowana szczególnie właściwościami fizjologicznymi szczepów ektendomikoryzowych. Są to:

1) aktywna pektynaza, która przy wysokiej produkcji auksyny znanej jako aktywator enzymów hydrolytycznych (MASUDA 1978), może umożliwiać rozkład pektyny stanowiącej składnik blaszki środkowej i rozluźniać strukturę komórek korzenia,

2) ściśle związana z tym aktywność celulolityczna, która może tłumaczyć mechanizm infekcji wewnątrzkomórkowej,

3) niezwykle wysoka aktywność GDH, tłumacząca z kolei rozpowszechnienie symbiozy ektendomikoryzowej na przenawożonych azotem, bądź użytkowanych uprzednio rolniczo glebach szkótek leśnych, gdzie posiadające odmienną specyfikę metabolizmu azotowego grzyby ektomikoryzowe mogą być eliminowane (RUDAWSKA i KIELISZEWSKA 1993).

Przypuszczenia takie potwierdzają obserwacje nad wpływem różnych form i dawek nawozów azotowych, stosowanych w nawożeniu lasu, na grzyby mikoryzowe (PACHLEWSKI i in. 1978). Okazuje się, że szczep MrgX toleruje azotan wapnia oraz mocznik w stężeniach, przy których wzrost np. grzyba *Suillus luteus* ulega niemal całkowitemu zahamowaniu. Ogromne znaczenie żywności podłoża w występowaniu na korzeniach sosny związków ekto- bądź ektendomikoryzowych podkreślali już wcześniej inni autorzy (MIKOŁA 1967; LAIHO 1967; ANTILLA i LÄHDE 1977). W tabeli 5.19 pokazano wyniki uzyskane przez MIKOŁĘ (1967), który porównał wpływ szczepu E (E-57) oraz standardowej populacji grzybów leśnych na wzrost nawożonych oraz nienawożonych siewek sosny. Na ubogim podłożu (torf, bez nawożenia) szczep E-57 wpływał hamująco na siewki sosny, podczas gdy na substracie nawożonym był zdecydowanie korzystny dla wzrostu gospodarza. A więc wpływ pozytywny bądź negatywny ektendomikoryzowych symbiontów na siewki sosny wydaje się zdeterminowany żywnością podłoża.

Tabela 5.19

Średnia wysokość (cm) części nadziemnej nawożonych i nienawożonych, 3-letnich sadzonek *Pinus sylvestris*, rosnących w torfie i zaszczipionych ektendomikoryzowym szczepem „E-57” lub porcją humusu, zawierającą populację typowych symbiontów ektomikoryzowych (wg MIKOLI 1967)

Rodzaj szczepionki	Sadzonki	
	nawożone	nienawożone
Szczep ektendo E-57	14,05	5,51
Grzyby ektomikoryzowe (z humusu leśnego)	12,86	10,12
Kontrola (nieszczepiona)	12,20	7,59

Poznaniu ektendomikoryz nie poświęcono dotąd dostatecznie dużo uwagi. Dane są rozproszone, a nie do końca ustalona systematyka utrudnia badania porównawcze. Najprawdopodobniej opisywany przez MIKOLĘ (1965) i LAIHO (1965) szczep E, przez WILCOXA (1971) szczep BDG-58 oraz PACHLEWSKIEGO i PACHLEWSKĄ (1971) MrgX należą do tego samego gatunku. Dziwi jedynie to, że MIKOLA (1965) nie wykazał aktywności celulolitycznej u testowanych przez siebie szczepów, podczas gdy ektendomikoryzowe szczepy MrgX taką aktywność wykazywały (PACHLEWSKI i CHRUŚCIAK 1979; RUDAWSKA, dane niepublikowane).

W ostatnich latach dzięki badaniom wielu mikologów (WALKER 1979; DANIELSON 1982; YANG i WILCOX 1984; PACHLEWSKI i KOCOŃ 1985; YANG i KORF 1985a; 1985b; EGGER i FORTIN 1988; 1990) udało się uporządkować systematykę grzybów ektendomikoryzowych. Zaliczono je do *Ascomycetes* rzędu *Pezizales* (DANIELSON 1982). Stadium doskonałego grzybów określanymi jako szczep E nadano nazwę *Wilcoxina* i opisano trzy gatunki: *Wilcoxina mikolae*, *Wilcoxina rehunii* i *Wilcoxina alaskana*

oraz dwie odmiany *W. mikolae* var. *mikolae* i *W. mikolae* var. *tetraspora* (YANG i KORF 1985a; 1985b).

Badania strukturalne ekto- i ektendomikoryzy (PICHÉ i in. 1986; SCALES i PETERSON 1991) podtrzymują pogląd, który wyrazili EGGER i FORTIN (1988), że ektendomikoryza powinna być rozpatrywana jako istotna, rozwojowa wariacja ektomikoryzy.

### 5.5.11. KONKLUZJA

**Symbioza mikoryzowa jest powszechnie obecna na korzeniach sosny. W warunkach naturalnych powstaje spontanicznie i istotnie wpływa na wzrost i rozwój tego drzewa.** Liczne badania laboratoryjne i doświadczenia polowe wykazały, że ten naturalny proces można ulepszyć przez taką manipulację symbiontami mikoryzowymi, aby otrzymać bardziej efektywne związki mikoryzowe, pozwalające uzyskać większe i zdrowsze drzewa w krótszym czasie. Kilka gatunków grzybów mikoryzowych wydaje się szczególnie przydatnych do sztucznych inokulacji *P. sylvestris*. Są to między innymi *Laccaria laccata* i *Hebeloma crustuliniforme*. Rozwój różnych technik szczepienia siewek w szkółkach pozwala intensyfikować rozwój mikoryz. Jednakże wiele z potencjalnych korzyści wynikających ze związku mikoryzowego pozostaje ciągle niewykorzystanych. Istnieje pilna potrzeba zintensyfikowania doświadczeń w szkółkach i na plantacjach, a także potrzebny jest rozwój badań nad fizjologią mikoryz w celu lepszego zrozumienia zależności pomiędzy grzybami symbiotycznymi a rośliną wyższą, aby móc skuteczniej sterować symbiozą mikoryzową i w ten sposób wpływać na produkcję dobrowego materiału do nasadzeń.

## 5.6. ŻYWIENIE MINERALNE\*

Sosna zwyczajna ma stosunkowo małe wymagania pod względem żyzności siedliska. Jednak bardzo szeroki zasięg geografi-

czny sosny oraz cenny surowiec drzewny, a więc duże znaczenie gospodarcze, spowodowały ogromne zainteresowanie tym gatun-

\* Opracował HENRYK FOBER