

Dorota HILSZCZAŃSKA*

WPLYW DESZCZOWANIA SIEWEK *PINUS SYLVESTRIS* L. NA ZMIANY W ZBIOROWISKU GRZYBÓW MIKORYZOWYCH I GLEBOWYCH

INFLUENCE OF WATERING OF *PINUS SYLVESTRIS* L. SEEDLINGS
ON MYCORRHIZAL AND SOIL FUNGI

***Abstract.** Mycorrhizal development is influenced by various soil environmental factors, e.g. moisture, type of soil and temperature. These same conditions affect community of soil fungi. The aim of the study was to estimate changes of communities of Scot pine ectomycorrhizas and soil fungi after nurseries' watering. The experiment was performed in a bare root nursery on: weakly loam sand and the same soil + litter (pine and spruce needles; v:v). Seedlings were watered from April to August, seedlings of the control treatment were not watered, receiving natural precipitation only. All plants from the two treatments were subjected to the same atmospheric conditions. Measurement of water contents of soil was carried out with time-domain reflectometry (TDR) equipment. After 5 months of vegetations the root systems of the seedlings were studied basing on morphological features. Identification of mycorrhizal symbionts was done also by using PCR RFLP method. In mycorrhizal colonization of roots 5 species took part. Positive correlation between increasing soil moisture and number of mycorrhizas was noticed. Higher percentage of soil fungi, e.g. from genus *Penicillium* and *Fusarium* was in non-watered soils. The percentage of fungi from genus *Mucor* and *Trichoderma* was higher on watered soils.*

***Key words:** Scots pine, litter, watering, PCR RFLP, ectomycorrhiza, soil fungi.*

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

1. WSTĘP

Mikoryzy ogrywają fundamentalną rolę w życiu roślin. Ektomikoryza – symbioza typowa dla większości drzew leśnych, wpływa na poprawę wzrostu rośliny i jakości systemu korzeniowego (Smith i Read 1997). W szkółkach ektomikoryzy odgrywają szczególną rolę w ochronie systemu korzeniowego przed atakiem patogenów zgorzelowych. Grzyby mikoryzowe mogą chronić korzenie przed patogenami przez samą obecność w glebie, jeszcze przed wyraźnym nawiązaniem kontaktu anatomicznego z rośliną. Ektomikoryzy uważane są również za ważny czynnik w zwiększeniu odporności drzew na stres wynikający z niekorzystnego dla roślin układu czynników środowiskowych (susza, mróz, wahania temperatur) (Rudawska 2000).

Ze zbiorowiskiem grzybów ektomikoryzowych związanych jest wiele pospolitych grzybów glebowych, takich jak: takich jak *Fusarium* spp., *Hemicola* sp., *Verticillium* sp., *Penicillium* sp. Wyizolowane gatunki nie wykazywały przy tym zdolności pasożytniczych (Paulitz i Linderman 1991).

Czynniki środowiska o charakterze fizycznym i chemicznym, jak: rodzaj i gatunek gleby, wilgotność i napowietrzenie, temperatura oraz odczyn gleby, które modyfikują kształt symbiozy mikoryzowej, nie pozostają także bez wpływu na kształt zbiorowiska grzybów glebowych.

Celem badań* było określenie zmian struktury mikoryz siewek sosny zwyczajnej i składu zbiorowisk grzybów glebowych ukształtowanych w wyniku nawadniania szkółek.

2. MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono w otwartej szkółce leśnej w Podłężu (Nadl. Garwolin) stosując dwa warianty podłoża: piasek słabogliniasty i piasek słabogliniasty ze ściółką sosnowo-świerkową (v:v, 2 m³ ściółki na 100 m² podłoża). Od maja do sierpnia siewki nawadniano zgodnie z wytycznymi DGLP (1991). Siewki z wariantów kontrolnych nie były sztucznie nawadniane, natomiast wszystkie siewki, zarówno z wariantów zabiegowych, jak i kontrolnych, w takim samym stopniu korzystały z opadów atmosferycznych.

Pomiary wilgotności i temperatury podłoża wykonywano okresowo od maja do sierpnia, wykonując je przez 2 kolejne tygodnie, codziennie o godz. 9 rano, po zabiegu deszczowania. Pomiary wilgotności gleby wykonywano na głębokości 10 cm, stosując analizę właściwości materiału w polu elektrycznym o częstotli-

* Badania zrealizowano w ramach tematu 5P06H04217 finansowanego przez Komitet Badań Naukowych

wości w zakresie mikrofalowym, z zastosowaniem reflektometrii czasowej, TDR - Time-Domain Reflectometry (Malicki i in. 1996).

Pomiary wilgotności odnoszone były do połowej pojemności wodnej (*ppw*), która oznacza maksymalną ilość wody w glebie po odcieknięciu wody grawitacyjnej. Stan taki występuje w glebach po ulewach lub długotrwałych deszczach, po odpływie w głąb profilu wody grawitacyjnej. Oznaczenie *ppw* wykonano według metody laboratoryjnej opisanej przez Brogowskiego i Czerwińskiego (1995). Wilgotność podłoża odpowiadającą *ppw* przyjęto jako 100% i do tej wartości odnoszono pomiary.

Na początku września pobrano po 10 siewek z każdego wariantu celem oceny mikoryz. Systemy korzeniowe były analizowane pod mikroskopem stereoskopowym, cechy morfologiczne mikoryz obserwowano przy powiększeniu 10–50×. Jako korzenie mikoryzowe klasyfikowano te, które charakteryzowały się wyraźną, widoczną mufką grzybniową i były pozbawione włóśników. Frekwencję (%) żywych mikoryz obliczano według wzoru:

$$\frac{100 \times \text{liczba żywych korzeni}}{\text{ogólna liczba korzeni}}$$

Mikoryzy identyfikowano na podstawie koloru, budowy mufki grzybniowej i obecności sznurów grzybniowych (Agerer 1987–1997; Ingleby i in. 1990).

Opis wyróżnianych mikoryz przedstawia tabela 1.

W celu identyfikacji grzybów uczestniczących w kolonizacji mikoryzowej wykonano analizę jądrowego DNA grzybów z mikoryz przy zastosowaniu łań-

Tabela 1. Klasyfikacja morfotypów mikoryz

Table 1. Classification of mycorrhizal types

Morfotyp Morphotype	Opis Description
typ 1	ektendomikoryza ectendomycorrhiza
typ 2	młode mikoryzy białe, starsze barwy od pomarańczowej do rudobrazowej, mufka gładka bez widocznej grzybni zewnętrznej, sznury grzybniove tej samej barwy co mikoryzy, typ <i>Thelephora</i> white when young to dark brown when old, mantle smooth, strands the same colour as mycorrhizas, <i>Thelephora</i> type
typ 3	mufka kremowo biała i welnista, sznury grzybniove kremowe mantle opaque milk-white and wooly, strands opaque milk
typ 4	mikoryzy jasnopomarańczowe, mufka gładka ze śladami białej ziarnistej grzybni, brak sznurów grzybniove bright orange mycorrhizas, mantle smooth with traces of whitish mycelium
typ 5	mufka czarna, gruba z promieniście odchodzącymi strzępkami, typ <i>Cenococcum</i> black and thick mantle with smooth, stiff hyphae radiating mantle <i>Cenococcum</i> type

cuchowej reakcji polimerazy – PCR, sprzężonej z analizą polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych – RFLP (White i in. 1990).

Aby wyizolować zbiorowiska grzybów glebowych, wykorzystano metodę Warcupa w modyfikacji Mańki (Mańka 1964). Glebę pobierano wiosną i jesienią z głębokości 3–15 cm w 5 miejscach badanego poletka powierzchni kontrolnej i zabiegowej (próbka zbiorcza wynosiła ok. 100 g gleby). Po przeniesieniu do pracowni w jałowych pojemnikach próżniowych systemu VacSy, glebę przesiano przez sterylne sito w celu usunięcia zanieczyszczeń, a następnie z każdej próby pobrano 1 g gleby i zmieszano z 74 g jałowego piasku kwarcowego, wytrząsając łagodnie przez 10 min. Z otrzymanego w ten sposób rozcieńczenia glebowego pobrano porcję ok. 30 mm³ i przeniesiono do szalki Petriego, zalewając następnie przestudzoną pożywką Martina z różem bengalskim i streptomycyną. Próba glebowa z każdego poletka reprezentowana była w 3 powtórzeniach. Szalki inkubowano w temperaturze 21–23 ° C i po uzyskaniu czystych kultur na skosach z pożywką PDA oznaczano wyrosłe kolonie (Domsch i Gams 1970). Liczebność grzybów obecnych w badanych próbach wyrażano procentowo w stosunku do wszystkich uzyskanych kolonii.

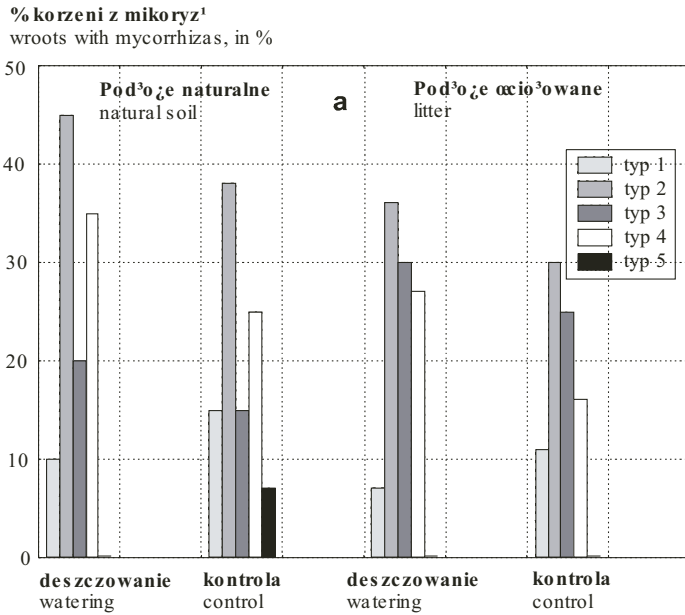
Przed zabiegiem deszczowania oraz po zakończeniu sezonu wegetacyjnego pobrano glebę z kwater szkółki do analiz odczynu oraz oceny zawartości podstawowych składników mineralnych. Próby gleby liczące po 500 g pobierano z 5 miejsc każdej powierzchni doświadczalnej. Analizę przeprowadzono na próbie uśrednionej. Analizy chemiczne wykonano w Pracowni Chemii Środowiska Leśnego IBL według obowiązujących metod: pH w KCL, N% – metodą Kiejdahla, P₂O₅ i K (mg/100g gleby) – metodą Egnera, Ca i Mg (mg/100g gleby) – metodą płomieniową w ekstrakcie octanu amonu.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 98. Istotność różnic między średnimi oceniano testem RIR (rozsądnej istotnej różnicy) Tukey'a przy poziomie istotności p£ 0,05. W przypadku oszacowania zależności między liczebnością mikoryz a wilgotnością podłoża określano współczynnik korelacji za pomocą testu nieparametrycznego korelacji rang Spearmana.

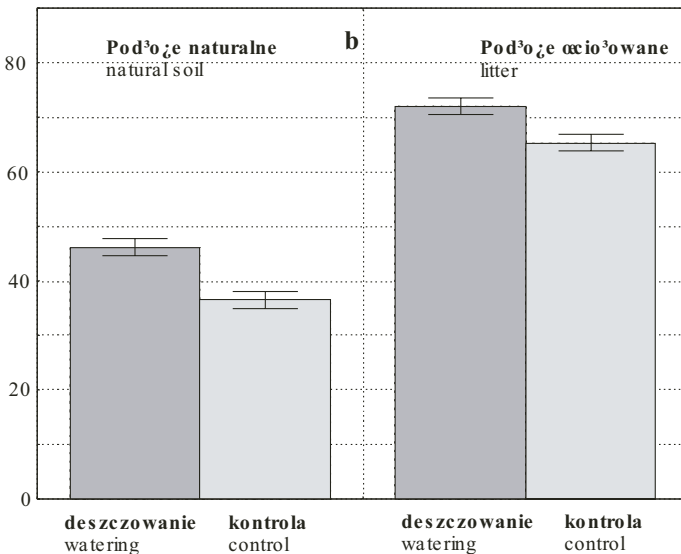
3. WYNIKI

Stwierdzono istotną zależność między liczebnością mikoryz u siewek a wilgotnością badanych podłoży (ryc. 1). Nawadnianie wpłynęło pozytywnie na liczebność mikoryz u siewek sosny zwyczajnej.

Niezależnie od nawadniania i rodzaju podłoża u siewek dominowały mikoryzy wyróżnione jako morfotyp 2, tworzone przez grzyb *Thelephora terrestris* (ryc. 1). Mikoryzy tworzone przez grzyba *Cenococcum geophilum* wyróżniono tylko na korzeniach siewek rosnących na podłożu naturalnym i nienawadnianym. Ektenomikoryzy licznie występowały u siewek nienawadnianych.

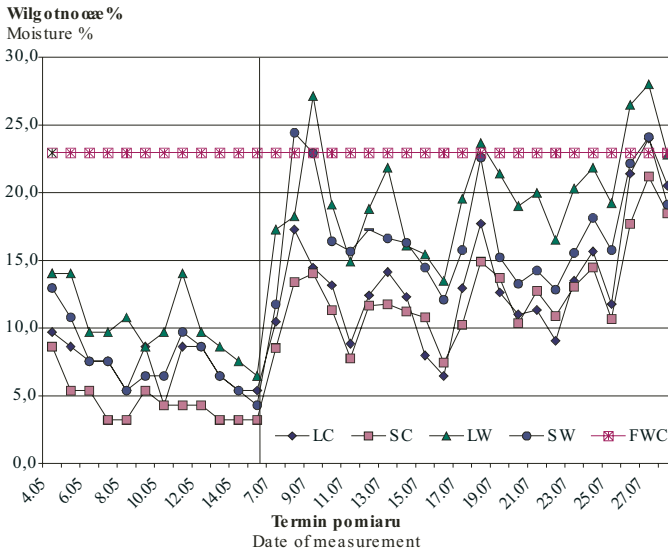


% korzeni z mikoryz¹
wrooths with mycorrhizas, in %



Ryc. 1. Zróżnicowanie częstości występowania morfotypów mikoryz u siewek sosny (a) i frekwencja mikoryz ogółem w zależności od wilgotności podłoża (b). Współczynnik korelacji rang Spearmana dla podłoża naturalnego $r=0,72$, $p=0,0003$, dla podłoża ściółkowanego $r = 0,66$, $p=0,0015$.

Fig. 1. Diversity of micorrhizal morphotypes on Scots pine seedlings (a) and total mycorrhizal frequencies in different soil's moisture (b). Spearman rank correlation for natural soil $r = 0.72$, $p=0.0003$ and for litter $r = 0.66$, $p = 0.0015$



Ryc. 2. Zmiany wilgotności podłoża w I (maj) i II (lipiec) okresie nawodnień. Oznaczenia: LC – podłoże ściółkowane kontrola, SC – podłoże naturalne kontrola, LW – podłoże ściółkowane deszczowane, SW – podłoże naturalne deszczowane, FWC – połowa pojemność wodna

Fig. 2. Soil moisture changes in first (May) and second (July) period of watering. Description: LC – litter control, SC – soil control, LW – litter watered, SW – soil watered, FWC – Field Water Capacity

Pomiary wilgotności podłoża (ryc. 2) wykazały, że wyższą wilgotnością charakteryzowało się podłoże wzbogacone ściółką. Jednakże niezależnie od rodzaju podłoża, nawadnianie stymulowało rozwój mikoryz. Średnie wartości wilgotności podłoża w odniesieniu do *ppw* wynosiły: na podłożu naturalnym, nienawadnianym 44% i na nawadnianym – 51%, a na ściółce nienawadnianej – 66% i nawadnianej – 75%.

Analiza składu zbiorowisk grzybów zasiedlających podłoża przeprowadzona wiosną wykazała, że liczba uzyskanych kolonii z prób podłoża naturalnego i ściółkowanego jest zbliżona (48 i 49). Stwierdzono obecność 5 gatunków grzybów. Udział patogenów rodzaju *Fusarium* w zbiorowisku z podłoża naturalnego był niemal dwukrotnie wyższy niż w zbiorowisku z podłoża ściółkowanego. Z kolei w podłożu ściółkowanym wyższy był udział grzybów rodzaju *Mucor*, a udział *Trichoderma* wyniósł 46,5% w podłożu ściółkowanym i 47% w podłożu naturalnym. Grzyby należące do rodzaju *Penicillium* liczniej występowały w podłożu naturalnym niż w ściółce.

Jesienią, w podłożu naturalnym niedeszczowanym liczba kolonii wzrosła w stosunku do okresu wiosennego o 20,8%, a w podłożu deszczowanym o 14,6%. W wariancie kontrolnym liczba kolonii była nieznacznie wyższa (o 5,5%) niż w wariancie deszczowanym (tab. 2).

W porównaniu z wiosną, jesienią stwierdzono niższą liczbę kolonii o 20,4% na podłożu ściółkowanym, o większej zawartości substancji organicznej i wyższej pojemności sorpcyjnej w wariancie kontrolnym, natomiast w wariancie deszczo-

Tabela 2. Procentowy udział oraz liczba kolonii wyizolowanych z gleby na powierzchni doświadczalnej, przed i po wykonaniu deszczowania

Table 2. Percentage and number of colonies isolated from soil, before watering and afterwards

Rodzaj, gatunek Genus, species	Podłoże naturalne Natural zoil			Podłoże ściółowane Litter		
	wiosna spring	jesień autumn		wiosna spring	jesień autumn	
		kontrola control	deszcz. watering		kontrola control	deszcz. watering
<i>Fusarium</i> spp.	13,5	17,0	5,0	7,5	13,0	7,0
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	25,0	2,0	4,0	25,5	4,0	10,0
<i>Rhizopus stolonifer</i> Lind	8,0	0	7,0	16,0	6,0	10,9
<i>Penicillium expansum</i> Link	6,5	30,0	20,0	4,5	30,0	18,0
<i>Penicillium</i> sp.	0	17,0	2,0	0	14,0	6,0
<i>Trichoderma viride</i> Pers. ex Fr.	47,0	24,0	62,0	46,5	33,0	40,0
Liczba wyrosłych kolonii Number of colonies	48	58	55	49	39	55

wanym – wyższą o 12,2%. Liczba kolonii w wariancie nawadnianym była o 41% wyższa niż w wariancie kontrolnym. Uzyskane wyniki wskazują, że pod koniec sezonu wegetacyjnego w podłożu naturalnym niedeszczowanym liczba kolonii była wyższa o 48,7% niż w podłożu ściółowanym. Po wykonaniu deszczowania liczba kolonii w obu podłożach była jednakowa.

Odczyn podłoża naturalnego wiosną wynosił 4,4 pH, natomiast podłoża ściółowanego 3,8 pH (tab. 3). Zawartość azotu, węgla i magnezu w podłożu naturalnym była niższa niż w podłożu ściółowanym, z kolei wyższa była zawartość fosforu, potasu i wapnia. Wartość wskaźnika C/N wyższa była w podłożu ściółowanym.

Jesienią w deszczowanym podłożu naturalnym obserwowano nieznaczny, w porównaniu do okresu wiosennego, wzrost zawartości węgla i azotu, natomiast wapnia prawie o 40%. Odczyn podłoża wzrósł z 4,4 do 4,6 pH. Wartość C/N wzrosła z 19,34 do 29,9. Zawartość fosforu zmniejszyła się o 32%, potasu o 57%, a magnezu o 58%.

W podłożu naturalnym nie deszczowanym wzrosła zawartość węgla i azotu, odczyn podłoża obniżył się z 4,4 do 4,1 pH, a wartość C/N z 19,34 do 18,1.

Tabela 3. Odczyn i zawartość składników pokarmowych w glebie – wiosna 2000

Table 3. pH and concentration of nutrients in soil – spring 2000

Rodzaj podłoża Type of soil	pH _{KCL}	C	N	C/N	P ₂ O ₅	K	Ca	Mg
		%						
Ściółka Litter control	3,8	2,53	0,125	21,2	8,90	9,84	56,6	11,42
Piasek słabogliniasty Soil control	4,4	2,08	0,108	19,34	11,36	11,58	61,4	11,94

Tabela 4. Odczyn i zawartość składników pokarmowych w glebie – jesień 2000

Table 4. pH and concentration of nutrients in soil – autumn 2000

Rodzaj podłoża Type of soil	pH _{KCL}	%C	%N	C/N	P ₂ O ₅	K	Ca	Mg
		%			mg/100g			
Ściółka deszczowana Litter watered	4,2	2,65	0,119	22,3	6,0	3,5	59,0	5,5
Ściółka niedeszczowana Litter control	4,1	2,17	0,116	18,7	7,7	3,5	52,0	4,4
Piasek słabogliniasty deszczowany Soil watered	4,6	2,78	0,116	29,9	7,7	5,5	100,0	6,2
Piasek słabogliniasty nie- deszczowany Soil control	4,1	2,17	0,120	18,1	9,7	5,0	52,0	5,0

Zawartość fosforu, potasu i magnezu zmniejszyła się, podobnie jak w przypadku podłoża naturalnego nawadnianego. Zawartość wapnia zmniejszyła się o około 15%.

Analiza prób po zakończeniu deszczowania wykazała, że w podłożu ściółkowanym deszczowanym w porównaniu z okresem wiosennym wzrosła nieznacznie zawartość węgla i wapnia. Odczyn podłoża wzrósł z pH 3,8 do 4,2. Wzrosła także wartość wskaźnika C/N z 21,2 do 22,3. Zmniejszyła się natomiast zawartość fosforu (o 33%), potasu (o 64%) i magnezu (o 52%). W podłożu ściółkowanym niedeszczowanym zmniejszyła się zawartość wszystkich badanych pierwiastków. Wartość C/N zmniejszyła się z 21,2 do 18,7, a pH podłoża wzrosło z 3,8 do 4,1 (tab. 4).

4. DYSKUSJA

Prowadzone badania wykazały, że wilgotność podłoża jest jednym z tych czynników środowiska glebowego, które w istotny sposób kształtują tworzenie się i rozwój symbiozy mikoryzowej. W kolonizacji mikoryzowej siewek w szkółce leśnej uczestniczyły przede wszystkim grzyby o charakterze hydrofilnym. Zastosowanie metody oceny jakościowej mikoryz (PCR RFLP) na podstawie jądrowego rDNA umożliwiło identyfikację dwóch grzybów tworzących mikoryzy u siewek sosny. Dominacja mikoryz tworzonych przez *T. terrestris* (*Tt*) – morfotyp 2 (ryc. 1) wskazuje na jego wszędobylski, a zarazem hydrofilny charakter.

Spontaniczna kolonizacja nieinokulowanych (kontrolnych) roślin (Tyminska i in. 1986, Perry i in. 1987, Guehl i Garbaye 1990) może sprawić, że grzyb ten będzie stanowił dużą konkurencję dla innych grzybów ektomikoryzowych, docierających do szkółek drogą naturalną w postaci zarodników lub wprowadzanych sztucznie w postaci szczepionek ektomikoryzowych.

Obecność mikoryz tworzonych przez *Cenococcum geophilum* (Cg) – morfotyp 5 (ryc. 1) jedynie u siewek rosnących na podłożu nienawadnianym i charakteryzującym się najniższą spośród innych podłoży wilgotnością wskazuje, że susza może być czynnikiem stymulującym rozwój ektomikoryz Cg. Ten wszędobylski, podobnie jak *Tt*, grzyb ektomikoryzowy preferuje gleby o niskim uwilgotnieniu i zwiększa odporność roślin na stres wodny Worley i Hacsckaylo 1959, Mexal i Reid 1973, Piggot 1982, Coleman i in. 1989).

Miała liczba uzyskanych gatunków grzybów glebowych może być rezultatem stosowania uprzednio w szkółce chemicznych zabiegów ochronnych przeciw zgorzeli siewek i osutce. Duży udział grzyba *Trichoderma viride* na kwaterach deszczowanych może mieć związek ze wzrostem zawartości węgla w glebie. Według Knudsen i Stack (1991) na podstawie zawartości węgla i azotu można prognozować rozwój biomasy strzępek grzybniowych *Trichoderma* spp. Badania populacji grzybów w mikoryzosferze świerka prowadzone przez Summerbell (1987) wykazały, że obecność izolatów *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. i *Micromucor* spp. nie wpływała ujemnie na proces tworzenia mikoryz.

Mniejszy udział grzybów rodzaju *Fusarium* na kwaterach deszczowanych wydaje się mieć związek z obecnością *T. viride*. Jak podają Mańka i Frużyńska-Jóźwiak (1992) *Trichoderma* i *Penicillium* spp. wyizolowane z gleb leśnych ograniczają wzrost grzyba *Fusarium oxysporum* powodującego zgorzel siewek.

Występowanie grzybów z rzędu *Mucorales* może mieć bezpośredni związek z odczynem podłoża. Zarówno w podłożu ściółkowanym, jak i naturalnym, wraz ze wzrostem pH wzrastał udział izolatów *Mucor hiemalis*. Za słusznością tego wniosku przemawiają wyniki uzyskane przez Holdenriedera i Siebera (1992). Autorzy ci odnotowali, że w glebie alkalicznej *M. hiemalis* f. sp. *hiemalis* był stałym komponentem zbiorowiska korzeni świerka, a w glebach kwaśnych jego udział był niewielki.

Niezrozumiałym jest wyższy udział *Penicillium* w zbiorowiskach grzybów na kwaterach niedeszczowanych.

Wyższa wilgotność podłoża, które w badanych szkółkach leśnych stanowił piasek słabogliniasty, okazała się czynnikiem stymulującym rozwój mikoryz (mimo obserwowanego wzrostu obecności *T. viride* w glebie) u siewek sosny zwyczajnej. U siewek nienawadnianych, przy średniej wilgotności podłoża w ciągu okresu wegetacyjnego poniżej 50 % ppw, liczba mikoryz była znacznie mniejsza niż u siewek nawadnianych. Wzbogacenie gleby szkółki leśnej ściółką wydaje się być ważnym czynnikiem warunkującym lepszy rozwój mikoryz u siewek, chociaż i w tym wypadku deszczowanie powodowało wzrost ogólnej liczby mikoryz, (najwyższą ich liczebność odnotowano przy 75% ppw) oraz zmiany udziału poszczególnych morfotypów.

INFLUENCE OF WATERING OF *PINUS SYLVESTRIS* L. SEEDLINGS
ON MYCORRHIZAL AND SOIL FUNGI

Summary

The communities of mycorrhizal and soil fungi were studied in forest nursery. Scots pine seedlings were grown on two different soils: natural soil and soil with amendment of litter. Both soils were subjected to watering. At the end of vegetation (autumn) assessment of mycorrhizal colonization on roots was done. Soil born fungi were isolated from the soils at the beginning and at the end of vegetation. Scots pine seedlings grown in soil with higher percentage of Field Water Capacity had greater number of mycorrhizas, although the seedlings from non-watered soil possessed one more mycorrhizal type – *Cenococum geophilum*. That type is claimed typical to dry soil, where moisture is very low. Soil fungi, such as *Penicillium* and *Fusarium* were more numerous in non-watered soils.

Adverse results were obtained in the case of fungi from genus *Mucor* and *Trichoderma* which higher colonies' amount was isolated in watered soil.

LITERATURA

- Agerer R. 1987-1997: Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn Verlag, Schwäbisch-Gmünd.
- Brogowski Z., Czerwiński Z. 1995: Materiały do ćwiczeń z gleboznawstwa. Cz. II. SGGW, Warszawa.
- Coleman M. D., Bledsoe C. S., Lopushinsky W. 1989: Pure culture of ectomycorrhizal fungi to imposed water stress. *Can. J. Bot.*, 67: 29-39.
- Domsch K. H., Gams W. 1970: Pilze aus Agrärboden. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Guehl J. M., Garbaye J. 1990: The effects of ectomycorrhizal status on carbon dioxide assimilation capacity, water-use efficiency and response to transplanting in seedling of *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco. *Ann. Sci. For.*, 21: 335-334.
- Holdenrieder O., Sieber T. N. 1992: Fungal associations of serially washed healthy non-mycorrhizal roots of *Picea abies*. *Myc. Res.*, 96/2: 151-156.
- Ingleby K., Mason P. A., Last F. T., Fleming L. V. 1990: Identification of ectomycorrhizas. ITE research publication no. 5. Institute of Terrestrial Ecology, London: HMSO.
- Knudsen G. R., Stack J. P. 1991: Modeling growth and dispersal of fungi in natural environments. [W:] *Handbook of Applied Mycology* (eds: D. K. Arora, B. Rai, K. G. Mukerji, G. R. Knudsen, M. Dekker). Soil and Plants. Vol. 1., INC. New York, Basel, Hong Kong.
- Malicki M. A., Plagge R., Roth C. H. 1996: Improving the calibration of dielectric TDR soil moisture determination taking into account the solid soil. *Eur. J. Soil Sci.*, 47: 357-366.
- Mańka K. 1964. Próby dalszego udoskonalenia zmodyfikowanej metody Warcupa izolowania grzybów z gleby. *Prace Kom. Nauk Roln. Leś.*, t. XVII, 1: 29-43.
- Mańka M., Frużyńska-Jóźwiak D. 1992: Forest soil fungi for biocontrol of *Fusarium oxysporum dianthi*. *Biulletin-OILB-SROP*, 15: 15-17.
- Mexal J., Reid C. P. P. 1973: The growth of selected mycorrhizal fungi in response to induced water stress. *Can. J. Bot.*, 51: 1579-1588.
- Paulitz T. C., Linderman R. C. 1991: Mycorrhizal interactions with soil organisms. *Handbook of Applied Mycology*. [W:] *Handbook of Applied Mycology* (eds: D. K. Arora, B. Rai, K. G. Mukerji, G. R. Knudsen, M. Dekker). Soil and Plants. Vol. 1., INC. New York, Basel, Hong Kong.
- Perry D. A., Molina R., Amaranthus M. P. 1987: Mycorrhiza, mycorrhizospheres and reforestation: current knowledge and research needs. *Can. J. For. Res.*, 17: 929-940.

- Piggot C. D. 1982: Survival of mycorrhiza formed by *Cenococcum geophilum* Fr. in dry soils. *New Phytol.*, 92:513-517.
- Rudawska M. (red.) 2000: Ektomikoryza, jej znaczenie i zastosowanie w leśnictwie. Instytut Dendrologii PAN, Kórnik.
- Smith S. E. Read D. J. 1997: Structure and development of ectomycorrhizal roots. [W:] *Mycorrhizal symbiosis*. Second Edition, Academic Press, Harcourt, Brace and Company, New York, 163-232.
- Stenström E. 1991: The effects of flooding on the formation of ectomycorrhizae in *Pinus sylvestris* seedlings. *Plant Soil*, 131: 247-250.
- Summerbell R. C. 1987: The inhibitory effects of *Trichoderma* species and other soil microfungi on formation of mycorrhiza by *Laccaria bicolor* *in vitro*. *New Phytol.*, 105: 437-448.
- Tyminska A., Le Tacon F., Bouchard D. 1986: Effect of three ectomycorrhizal fungi on growth and phosphorus uptake in *Pinus sylvestris* seedlings at increasing phosphorus levels. *Can. J. Bot.*, 64: 2753-2757.
- Unestam T., Sun Y. P. 1995: Extramatrical structures of hydrophobic and hydrophilic ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 5: 301-311.
- White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. 1990: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. [W:] *PCR Protocols: A Guide to Methods and Amplifications* (eds. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. Sninsky & T. J. White), Academic Press, London: 315-322.
- Worley J. F., Hacskeylo E. 1959: The effect of available soil moisture on the mycorrhizal association of Virginia pine. *For. Sci.*, 5: 267-268.
- Wytuczne stosowania deszczowni w szkółkach leśnych i zadrzewieniowych, 1991: Lasy Państwowe, Instytut Badawczy Leśnictwa, Warszawa, 1991.