

Dorota Hilszczańska¹

Wpływ azotu w podłożu na cechy biometryczne oraz zawartość tego pierwiastka w siewkach sosny zwyczajnej z mikoryzą *Thelephora terrestris*

Influence of N-fertilized substrata on biometric parameters and nitrogen content of seedlings with *Thelephora terrestris*

Abstract. Biometric parameters of Scots pine seedlings and nitrogen content in needles were investigated. The seedlings were inoculated in laboratory with an ectomycorrhizal fungus *Thelephora terrestris* and were grown in four different substrata treatments: S – nursery substratum, P – post-agricultural soil, SW – nursery substratum enriched by nitrogen, PW – post-agricultural soil enriched by nitrogen. After six months it was found, that seedlings from treatments with lower N content possessed higher values of parameters as well as the higher number of mycorrhizae. Irrespective of the type of substratum – nursery or agriculture one, the higher content of nitrogen was the cause of a much smaller proportion of fine roots.

Key words: substrata, nitrogen, *Thelephora terrestris*, Scots pine seedlings.

1. Wstęp

Do grzybów ektomikoryzowych należą gatunki o różnej aktywności symbiotycznej – mniej lub bardziej korzystnej dla rośliny, np. pod względem zwiększania parametrów wzrostu czy przyswajalności składników pokarmowych. Aktywność ta jest w znacznym stopniu uwarunkowana składem lokalnego zbiorowiska tworzącego się spontanicznie lub pod wpływem zabiegów uprawowych w szkółce. Już w latach 60. Dominik (1963) zalecał zakładanie szkółek podokapowych z obfitą domieszką biocenotyczną drzew i krzewów, przy czym cykl produkcyjny sadzonek w takich szkółkach nie powinien trwać dłużej niż trzy lata. W niektórych szkółkach leśnych użytkowanie podłoża trwa jednakże nawet 20 lat, co powoduje zanik lub ograniczenie obecności symbiontów mikoryzowych (Kowalski 2007), a funkcje fizjologiczne i ochronne powstających mikoryz są ograniczone (Rudawska 1998a). Sadzonki są wówczas wyposażone głównie w ektendomikoryzy, przy niewielkim udziale mikoryz tworzonych przez tzw. grzyby ruderalne, przede wszystkim zaś *Thelephora terrestris* (Hilszczańska 2002, Menkis et al. 2005, Hilszczańska et

Sierota 2006b). Oznacza to konieczność zwrócenia szczególnej uwagi na jakość sadzonek pochodzących ze szkółek leśnych, w tym także sadzonek sztucznie mikoryzowanych w trakcie cyklu produkcyjnego (Kowalski et al. 1994, Kowalski, 1997, Kowalski 2007, Marx et Cordell 1989).

Grzyb *Thelephora terrestris*, którego zarodnikujące owocniki w warunkach naturalnych występują od późnej wiosny aż do jesieni, z uwagi na wszędobylski charakter stanowi dużą konkurencję dla innych grzybów ektomikoryzowych (Tyminska et al. 1986 Perry et al. 1989, Guehl et Garbaye 1990). Mikoryzy grzyba *T. terrestris* zdolne są przeżyć nawet w ekstremalnych warunkach środowiska, przy nadmiernym uwilgoceniu lub przesuszeniu podłoża (Garbaye et Churin, 1997). Badania struktury mikoryz u sadzonek hodowanych z odkrytym systemem korzeniowym wykazały, że dominującym typem mikoryz u jedno- i dwuletnich sadzonek sosny są mikoryzy tworzone przez grzyby rodzaju *Thelephora*, w tym głównie przez *T. terrestris* (Ursic et al. 1996; Rudawska et al. 2001, Hilszczańska 2002). Specyficzne warunki panujące w szkółce, tj. wysoka zawartość związków pokarmowych (zwłaszcza azotu) i wysoka wil-

¹ Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Fitopatologii Leśnej, ul. Braci Leśnej 3, Sękocin Stary, 05-090 Raszyn, Fax: +48 227150504, e-mail: d.hilszczańska@ibles.waw.pl

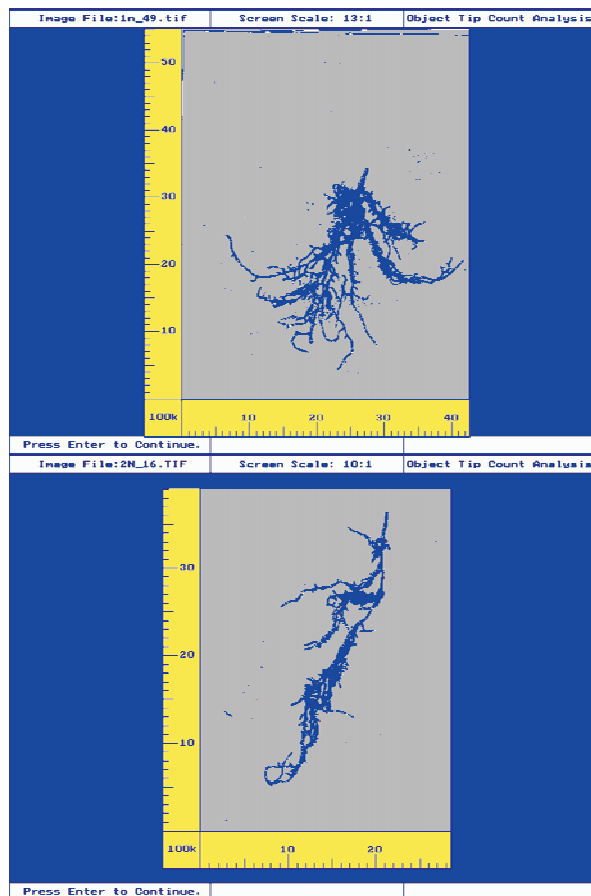
żywką z mniejszą zawartością N, wariant SW – siewki rosnące na podłożu szkółkarskim podlewane pożywką z większą zawartością N. Azot dostarczany był cyklicznie wraz z kolejnymi dawkami wody przy podlewaniu siewek. Siewki wzrastały przez okres 6 miesięcy. Analizy chemiczne podłoży wykonano w Pracowni Chemii Środowiska Leśnego IBL według obowiązujących metod: pH w KCL; N% metodą Kjedahla; P₂O₅ i K [mg/100g gleby] – metodą Egnera; Ca i Mg [mg/100g gleby] – metodą płomieniową w ekstrakcie octanu amonu.

Do analiz siewek pobierano losowo po 30 egzemplarzy z każdego wariantu, oceniając następujące parametry: wysokość i grubość szyi korzeniowej, a także świeżą i suchą masę siewek, po czym na tej podstawie wyliczono ich wilgotność. Liczbę korzeni drobnych oceniono przy pomocy programu komputerowego Delta-T Scan (ryc. 1) (Kirchhof i Pendar, 1993). Liczbę mikoryz określano po zbadaniu przynajmniej 200 korzeni drobnych pod mikroskopem stereoskopowym (ryc. 2). Analizę chemiczną zawartości pierwiastków wykonano w Pracowni Chemii Środowiska Leśnego IBL według metod opisanych przez Page i in. (1982). Azot organiczny badano według metody Kjeldahla, a zawartość P, K, Ca, Mg metodą ICP, po mineralizacji w mieszaninie kwasów azotowego i nadchlorowego.

Dane dotyczące wielkości parametrów biometrycznych siewek i liczebności mikoryz, po stwierdzeniu zgodności z rozkładem normalnym wykonanym testem Shapiro-Wilka, analizowane były przy użyciu analizy wariancji ANOVA (program Statistica'98). Istotność różnic między średnimi oceniano testem NIR (najmniejszej istotnej różnicy) przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

4. Wyniki

Azot pobrany z podłoża przez korzenie drobne i mikoryzy w największym stopniu (najpełniej) wykorzystany został przez siewki rosnące na podłożu szkółkarskim (S), co wyraziło się znaczącym wzrostem średniej suchej masy w przeliczeniu na 1 siewkę (0,0727 g), istotnie większej niż w pozostałych wariantach. Siewki te były najwyższe (49,92 mm) i najgrubsze w szyi korzeniowej (0,729 mm), a różnice między wariantami były statystycznie istotne. Równocześnie cechowała je najniższa wartość współczynnika smukłości s (13,12), podczas gdy wartość tego współczynnika wyliczona dla siewek rosnących w podłożu szkółkarskim dodatkowo wzbogaconym azotem (SW) była trzykrotnie wyższa ($s=39,10$). Pod względem wilgotności części nadziemnej siewek nie stwierdzono istotnych różnic między wariantami ($p > 0,05$). Oznacza to, że niezależnie od liczby wytworzonych korzeni drobnych, pobierających wodę z



Rycina 1. System korzeniowy siewki sosny zwyczajnej rosnącej na podłożu szkółkarskim – S z niskim nawożeniem azotowym (u góry) oraz na glebie porolnej – PW wzbogaconej azotem (na dole)

Figure 1. Roots of Scots pine seedlings grown on nursery substrate with low nitrogen level – PW (top) and on post agricultural soil with high nitrogen level – PW (bottom)



Rycina 2. Mikoryzy *T. terrestris* u 8-tygdniowej siewki sosny (pow. 6,5-krotne)

Figure 2. Mycorrhizas of *T. terrestris* on roots of 8 weeks old of Scots pine seedling (6,5× magnification)

podłoża, siewki w naturalny sposób optymalizowały wilgotność tkanek.

Liczba utworzonych mikoryz była najwyższa w wariancie podłoża szkółkarskiego (720,5 szt.), najniższa zaś w glebie porolnej wzbogaconej azotem (158,1 szt.); różnice między średnimi dla podłoża szkółkarskiego (S) i pozostałych wariantów (P, PW i SW) były statystycznie istotne. Sucha masa siewek przeliczona na 1 g azotu zawartego w substracie była najwyższa w glebie porolnej (0,282 g), najniższa zaś w podłożu szkółkarskim wzbogaconym (0,095 g); różnice między wariantami były statystycznie istotne. Wzbogacenie substratu dodatkową dawką azotu wyraziło się, co zrozumiałe, istotnym wzrostem wartości wskaźnika zawartości azotu w przeliczeniu na 1 g suchej masy siewki – w wariantach PW i SW jego wartość wynosiła odpowiednio 10,04 i 13,30 i była ponad dwukrotnie wyższa, niż w wariantach wyjściowych S i P, odpowiednio: 5,83 i 5,33.

Liczba wytworzonych korzeni drobnych przeliczona na 1 g azotu zawartego w podłożu („wydajność”) była najwyższa w podłożu szkółkarskim (2012,6 szt.), bardzo zasobnym w azot (0,358 g), zaskakująco najniższa zaś (564,8 szt.) w takim samym podłożu, lecz wzbogaconym dodatkowo azotem (0,365 g). Mogłoby to oznaczać, że dostępność dodatkowej dawki azotu w podłożu nie tylko nie była czynnikiem stymulującym tworzenie symbiozy mikoryzowej, lecz nawet okazała się czynnikiem hamującym aktywność *T. terrestris*. Różnice między wariantami, a zwłaszcza w kontekście zawartości azotu ogółem, były statystycznie istotne. Z kolei w przeliczeniu na każdy pojedynczy korzeń drobny, zawartość azotu w substracie („dostępność”) była najniższa ($0,592 \times 10^{-3}$ g) w podłożu szkółkarskim, najwyższa zaś ($16,94 \times 10^{-3}$ g) w takim samym podłożu po wzbogaceniu dodatkowym azotem (SW). W obydwu wariantach, w których wzbogacono substrat o dodatkową ilość azotu, zarówno grzyb, jak i roślina zareagowały zmniejszeniem liczby korzeni drobnych: w glebie porolnej, niemal 2-krotnie uboższej w azot w porównaniu z substratem szkółkarskim, liczba wytworzonych korzeni była istotnie niższa (tab. 2).

Średnia zawartość azotu w 1 siewce była istotnie zróżnicowana – najwyższa dla siewek rosnących w podłożu szkółkarskim (0,00169 g), najniższa zaś w podłożu szkółkarskim dodatkowo wzbogaconym w azot (0,00090 g). Może to oznaczać, że dodatkowo dostępny azot nie został wchłonięty przez system korzeniowy i wykorzystany do budowy biomasy siewki. Wykorzystanie azotu wyraziło się bowiem zbliżoną zawartością w suchej masie siewek analizowanych wariantów: od 0,0231 g N dla podłoża szkółkarskiego do 0,0260 g N dla tego samego podłoża po wzbogaceniu; różnice między średnimi nie były statystycznie istotne. Wartość wskaźnika wykorzystania azotu dostępnego w substracie przez

siewkę (w stosunku do azotu „strukturalnego”) zawierała się w przedziale od 0,25% w wariancie podłoża szkółkarskiego wzbogaconego (SW) do 0,86% w wariancie gleby porolnej (P).

Porównanie relacji między zawartością azotu w siewkach a liczbą wytworzonych korzeni drobnych wskazuje, że każdemu pojedynczemu korzeniowi odpowiadała zawartość $6,05 \times 10^{-4}$ g N w wariancie podłoża szkółkarskiego oraz $5,61 \times 10^{-4}$ g N po wzbogaceniu tego podłoża. Z kolei, z wbudowaniem w biomase siewki 1 g azotu wiązałyby się obecność od 2881,65 szt. korzeni drobnych w glebie porolnej wzbogaconej – do 2174,17 szt. korzeni drobnych w podłożu szkółkarskim wzbogaconym.

5. Podsumowanie wyników i dyskusja

Uzyskane wyniki wykazały, że większą biomase siewek sosny z mikoryzą *T. terrestris* uzyskano na podłożu o niższej zawartości dostępnego azotu, co koresponowało z niższą zawartością tego pierwiastka w igłach siewek. Podobne wyniki uzyskali Hobbie i Colpaert (2003), badając związek między nawożeniem azotowym i dostępnością azotu a kolonizacją mikoryzową. Według wspomnianych autorów nawożenie azotowe jest ważne dla rozwoju rośliny w ciągu kilku tygodni po zawiązaniu syntezy mikoryzowej, kiedy sieć strzępek grzybni nie jest jeszcze w pełni rozwinięta. W prezentowanym doświadczeniu siewki były podlewane wodą z azotem regularnie przez trzy miesiące i w przypadku podwyższonej dawki dało się zauważyć, że rośliny osiągnęły mniejsze korzyści pod względem ocenianych cech biometrycznych. Stwierdzono przy tym, że niezależnie od badanego substratu (szkółkarskie i gleba porolna), wyższa zawartość azotu była czynnikiem ograniczającym tworzenie mikoryz przez *T. terrestris*.

Chociaż *T. terrestris* występuje w różnego rodzaju środowiskach, zarówno w nienawożonych, jak i wysokonawożonych mineralnie i organicznie glebach w szkółkach leśnych (Mason i in. 1983, Marx i in. 1984), to wyższy udział mikoryz *T. terrestris* u sadzonek rosnących w warunkach niższego nawożenia azotowego (tab. 2) wskazuje, że mimo dużej plastyczności tego gatunku, azot w badanych warunkach okazał się czynnikiem ograniczającym tworzenie ektomikoryz *T. terrestris*. Na podobne zależności u innych grzybów ektomikoryzowych wskazują Wallander (1992) i Rudawska (1998 a i b). Jednak z badań prowadzonych w szkółkach przez Villeneuve i in. (1991) oraz Garbaye i Churina (1997) wynika, że w przypadku sadzonek daglezi i dębu wysoki poziom nawożenia azotem sprzyjał kolonizacji korzeni tych gatunków drzew przez *T. terrestris*. Stwierdzone różnice mogą wynikać z odmiennych warunków

Tabela 2. Parametry wzrostu siewek i wyliczone na ich podstawie wskaźniki. Warianty reprezentują: S – podłoże szkółkarskie, P – glebę porolną oraz podłoża wzbogacone dawką azotu: PW i SW

Table 2. Seedlings' parameters and indicators regarding to different substrata: S – nursery substrata, P – post agricultural soil and substrata enriched by nitrogen: PW and SW

Parametry i wskaźniki w przeliczeniu na 1 siewkę Parameters and indicators computed for 1 seedling	Podłoże szkółkarskie Nursery substrata	Gleba porolna Post agricultural soil	Podłoże szkółkarskie wzbogacone Nursery substrata enriched by N	Gleba porolna wzbogacona Post agricultural soil enriched by N	<i>P</i>
	S	P	SW	PW	
Parametry biometryczne i wyliczone wskaźniki Biometric parameters and computed indicators					
Wysokość (mm) Height (mm)	49,92 c	42,63 b	37,69 ab	35,56 a	0,0003
Grubość szyi (mm) Collar diameter (mm)	0,729 c	0,639 bc	0,422 a	0,555 ab	0,0019
Świeża masa siewki(g) Fresh mass (g)	0,315 a	0,231 ab	0,173 b	0,178 b	0,0126
Sucha masa siewki (g) Dry mass (g)	0,0727 a	0,0515 b	0,0340 b	0,0346 b	0,0005
Wilgotność (%) Water content (%)	76,83	76,99	76,96	79,74	0,2813
Smukłość Slenderness	13,12 a	18,64 a	39,10 b	24,51 ab	0,0343
Mikoryzy (szt.) Mycorrhizae (number)	<i>720,5 a</i>	<i>236,9 b</i>	<i>206,15 b</i>	<i>158,1 b</i>	0,0019
Zawartość azotu i wyliczone wskaźniki Nitrogen content and computed indicators					
N og. /1 g s.m. siewki Organic N /1 g d.m. of seedling	5,83 a	5,33 a	13,30 b	10,04 ab	0,0241
S. masa siewek /1 g N Dry mass of seedlings/1g N	0,203 bc	0,282 c	0,095 a	0,192 b	0,0003
N ogółem/1 korzeń drobny Total N/1 fine root	0,592×10⁻³ a	2,45×10⁻³ a	16,94×10⁻³ b	1,90×10⁻³ a	0,0242
Korzenie drobne/ 1 g N org. Fine roots/ 1g organic N	2012,6 c	1355,9 bc	564,8 a	935,9 ab	0,0046
Zawartość N w 1siewce N content in 1 seedling	0,00169	0,00159	0,0009	0,00102	0,0637
Zawartość N w 1g s.m. siewki N content in 1g of d.m. seedling	0,0231	0,0233	0,0260	0,0255	0,2644
Udział N siewki w N ogółem (%) N percentage of seedling in total N (%)	0,47% <i>0,1667 ab</i>	0,86% <i>0,2693 c</i>	0,25% <i>0,0969 a</i>	0,54% <i>0,1855 b</i>	0,0099
N w siewce / 1 korzeń drobny N in seedling/1 fine root	6,05×10⁻⁴ b	6,77×10⁻⁴ b	5,61×10⁻⁴ ab	4,51×10⁻⁴ a	0,0144
Korzenie drobne/ 1g N w siewce Fine roots/1 g N	1713,46 a	1538,85 a	2174,17 b	2881,65 b	0,0002
Azot w glebie ogółem (g) Total nitrogen in soil (g)	0,358	0,183	0,365	0,190	

Literami oznaczono istotność różnic między średnimi; pogrubiono gdy $p < 0,05$ Different letters mean statistically significant differences, in bold for $p < 0,05$

Kursywą oznaczono wyniki analizy wariancji po transformacji log

Italic means results of ANOVA after log transformation

prowadzenia doświadczeń (warunki kontrolowane vs. naturalne), jak i odmiennej reakcji rośliny-gospodarza na zastosowane nawożenie azotowe.

Uzyskane wyniki wskazują, że dla kondycji rośliny ocenianej jej cechami biometrycznymi i liczbą mikoryz, oprócz nawożenia ważny jest także rodzaj substratu, co

uwidoczniło się szczególnie po wprowadzenie dodatkowej dawki azotu. Według Swaty i in. (1998), to właśnie typ gleby (struktura fizyczna i skład chemiczny, przepuszczalność, porowatość) decyduje o wrażliwości ektomikoryz na zmiany wilgotności i zasobność pokarmową podłoża. Być może podobny mechanizm, regulowany przez strukturę podłoża, cechuje możliwość pobierania azotu przez grzybnię.

W warunkach niższego poziomu nawożenia azotowego (warianty S i P) liczba korzeni siewek z *T. terrestris* była większa niż w wariantach wzbogaconych przez dodanie tego pierwiastka. Drastycznie mniejszy udział mikoryz u siewek, zarówno na podłożu szkółkarskim jak i glebie porolnej, nawożonych wysokimi dawkami azotu potwierdza wnioski wysunięte przez Carfrae i in. (2006). Autorzy ci badając zbiorowisko grzybów ektomikoryzowych i ektomikoryz u 13-letnich świerków (*Picea sitchensis*) nawożonych zwiększonymi dawkami nawozów: azotowego, siarkowego oraz azotowego i siarkowego jednocześnie stwierdzili, że najwyższa kolonizacja mikoryzowa nastąpiła w przypadku nawożenia azotowego, zmniejszając jednak liczbę tworzonych owocników. Cytowani autorzy podają, że nadmiar azotu w glebie spowodował wzrost asymilacji azotu przez grzybnię ektomikoryzową oraz zużywanie większych ilości węgla, wskutek czego pozostawało zbyt mało tego pierwiastka do tworzenia grzybni ekstramatrykalnej i owocników.

Uzyskane w warunkach opisywanego doświadczenia wyniki wskazują, że:

- podłoże szkółkarskie jest lepszym substratem dla wzrostu siewek niż gleba porolna;

- wprowadzenie do gleby porolnej dodatkowego nawożenia azotowego wyraża się ponadczterokrotnie mniejszą liczbą mikoryz i obniżeniem wielkości parametrów hodowlanych siewek w porównaniu do substratu szkółkarskiego;

- w substracie szkółkarskim zwiększona zawartość azotu skutkuje ponadtrzykrotnie mniejszą liczbą mikoryz z *T. terrestris*.

Literatura

- Agerer R. 2001. Exploration types of ectomycorrhizae. *Mycorrhiza*, 11(2): 107-114.
- Carfrae J. A., Skene K. R., Sheppard L. J., Ingleby K., Crossley A. 2006. Effects of nitrogen with and without sulphur on ectomycorrhizal community in a Sitka spruce (*Picea sitchensis* Bong. Carr.) forest. *Environmental Pollution*, 141(1): 131-138.
- Colpaert J. V. 1999. *Thelephora*. [W:] Ectomycorrhizal Fungi. Key Genera in Profil (eds. J. W. G. Cairney, S. M. Chambers). Springer.
- Dominik T. 1963. Studium o mikoryzie. *Folia Forestalia Polonica. Seria A*, 5: 1-160.
- Garbaye J., Churin J. L. 1997. Growth stimulation of young oak plantations inoculated with the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* with special reference to summer drought. *Forest Ecology and Management*, 98: 221-228.
- Guehl J. M., Garbaye J. 1990. The effects of ectomycorrhizal status on carbon dioxide assimilation capacity, water-use efficiency and response to transplanting in seedlings of *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco. *Annals of Forest Science*, 21: 335-334.
- Hilszczańska D. 2002. Mycorrhizal fungi in Scots pine cultures after seedlings out planting on post-agricultural lands. *Folia Forestalia Polonica, Series A-Forestry*, 44: 97-102.
- Hilszczańska D., Sierota Z. 2006a. The role of *Thelephora terrestris* fungus in mycorrhization on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings I. Laboratory study. *Sylvan* 1: 40-47.
- Hilszczańska D., Sierota Z. 2006b. The role of *Thelephora terrestris* fungus in mycorrhization on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings. II. Field study. *Sylvan*, 2: 20-28.
- Hobbie E. A., Colpaert J. V., 2003. Nitrogen availability and colonization by mycorrhizal fungi correlate with nitrogen isotope patterns in plants, *New Phytologist*, 157: 115-126.
- Kirchhof G., Pendar K. 1993. Delta-T Scan. User Manual, Cambridge CB50EJ, England.
- Kottke I., Guttenberger M., Hampp R., Oberwinkler F. 1987. An in vitro method for establishing mycorrhizae on coniferous tree seedlings. *Trees*, 1: 191-194.
- Kowalski S. 1997. Praktyczne aspekty mikrotrofizmu w szkółkach leśnych. *Sylvan*, 6: 5-15.
- Kowalski S., Ryba Z., Lonc K., Domański T. 1994. Możliwość poprawy mikrotrofizmu sosny zwyczajnej wysadzonej w glebę skażoną zanieczyszczeniami przemysłowymi. III Krajowe Sympozjum Kórnik, Wyd. Sorus, 557-588.
- Kowalski S. 2007. Selected fungi of *Hebeloma* strain. P. Kumm. in ectomycorrhizal synthesis with pine tree (*Pinus sylvestris* L.) and oak tree (*Quercus robur* L.) in a container school. CILP, Warszawa.
- Last F. D., Dighton J., Mason P. A. 1987. Successions of sheathing mycorrhizal fungi. *Trends in Ecology and Evolution*, 2: 157-161.
- Leake J. R. 2002. Interactions between ecto-mycorrhizal and saprotrophic fungi. [In:] Mycorrhizal ecology. (eds. Marcel G. A. Van der Heijden and Ian R. Sanders), Springer Verlag, Berlin – Heilderberg – New York.
- Mańka K. 1992. Fitopatologia Leśna. PWRiL, Warszawa 1992.
- Marx D. H., Cordell C. E., Kenny D. S., Mexal J. G., Artman J. D., Riffle J. W., Molina R. J. 1984. Commercial vegetative inoculum of *Pisolithus tinctorius* and inoculation techniques for development of ectomycorrhizae on bare-root tree seedlings. *Forest Science Monographs*, 25: 101.
- Marx D., Cordell C. E. 1989. The use of specific ectomycorrhizas to improve artificial forestation practices. [In:] Biotechnology of fungi for improving plant growth. Symposium of the British Mycological Society, Sussex, September 1988. Cambridge University Press, 1-25.
- Mason P. A., Wilson J., Last F. T., Walker C. 1983. The concept of succession in relation to the spread of sheathing mycorrhizal fungi on inoculated tree seedlings growing in unsterile soils. *Plant and Soil*, 71: 247-256.

- Menkis A., Vasilauskas R., Taylor A. F. S., Stenlid J., Finlay R. 2005. Fungal communities in mycorrhizal roots of conifer seedlings in forest nurseries under different cultivation systems, assessed by morphotyping, direct sequencing and mycellial isolation. *Mycorrhiza*, 16(1): 33-41.
- Page A. L., Miller R. H., Keeney D. R. 1982. Methods of soil analysis. Part 2, Chemical and Microbiological Properties. Second Edition. American Society of Agronomy, Inc., Soil Society of America, Inc. Publisher Madison, Wisconsin USA.
- Perry D. A., Margolis H., Choquette C., Molina R., Trappe J. M. 1989. Ectomycorrhizal mediation of competition between coniferous tree species. *New Phytologist*, 112: 501-511.
- Rudawska M. 1998a. Wpływ nawożenia azotowego na stan mikoryz sosny *Pinus sylvestris* w szkółkach leśnych. [W:] Materiały konferencji naukowo-technicznej (red. Z. Sierota, M. Małecka), Warszawa-Sękocin, 24–25.03.1998, 32-43.
- Rudawska M. 1998b. Struktura i funkcja mikoryz. [W:] Biologia świerka pospolitego. Wyd. Bogucki, Poznań, (red. A. Boratyński, W. Bugała.), 276-287.
- Rudawska M., Leski T., Gornowicz R. 2001. Mycorrhizal status of *Pinus sylvestris* nursery stock in Poland as influenced by nitrogen fertilization. *Dendrobiology*, 46: 49-58.
- Swaty R. L., Gehring C. A., van Ert M., Theimer P. K., Whitham T. G. 1998. Temporal variation in temperature and rainfall differentially affects ectomycorrhizal colonization at two contrasting sites. *New Phytologist*, 139: 733-739.
- Thomson B. D., Grove T. S., Malajczuk N., Hardy G. E. S. 1994. The effectiveness of ectomycorrhizal fungi increasing the growth of *Eucalyptus globulus* Labill. in relation to root colonization and hyphal development in soil. *New Phytologist*, 126: 517-524.
- 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. *Canadian Journal of Botany*, 64: 2753-2757.
- Ursic M., Peterson R. L., Husband B. 1997. Relative abundance of mycorrhizal fungi and frequency of root rot on *Pinus strobus* seedlings in a southern Ontario nursery. *Canadian Journal of Forest Research*, 27: 54-62.
- Villeneuve N., Le Tacon F., Bouchard D. 1991. Survival of inoculated *Laccaria bicolor* in competition with native ectomycorrhizal fungi and effects on the growth of out-planted Douglas-fir seedlings. *Plant and Soil*, 135: 95-107.
- Wallander H. 1992. Regulation of ectomycorrhiza symbiosis in *Pinus sylvestris* L. seedlings. Influence of mineral nutrition. Ph. D. Th. Swedish University of Agricultural Sciences, Dept. of Forest Mycology and Pathology, Uppsala, Sweden.
- Weir J. L. 1921. *Thelephora terrestris*, *T. fimbriata* and *T. caryophyllea* on forest tree seedlings. *Phytopathology*, 11: 141-144.