

# Produkcja sadzonek mikoryzowanych

Kazimierz Szabla

## SPIS TREŚCI:

### 1. ZNACZENIE MIKORYZ W ŻYCIU LASU.

### 2. POTRZEBY MIKORYZACJI.

### 3. METODY MIKORYZACJI.

#### 3.1. METODA NATURALNA.

#### 3.2. METODY MIKORYZACJI STEROWANEJ.

### 4. ZARYS TECHNOLOGII STEROWANEJ MIKORYZACJI.

### 5. ANEKS – ILUSTRACJE DOKUMENTUJĄCE POZYTYWNE ODDZIAŁYWANIE MIKORYZ.

## 1. Znaczenie mikoryz w życiu lasu

Bakterie, grzyby, owady i wiele innych organizmów decydują o obiegu materii; w przyrodzie przyczyniają się do mineralizacji złożonych związków organicznych. Mogą one również umożliwiać syntetyzowanie wielu związków chemicznych mając np. zdolność pobierania pierwiastków z powietrza i skały macierzystej. Ich ilość, różnorodność i wzajemne relacje są stanem dynamicznym, zależnym od warunków zewnętrznych, w tym od stopnia antropopresji i przekształceń środowiska.

Z ludzkiego punktu interpretacji zjawisk zachodzących w przyrodzie organizmy te można podzielić na symbiotyczne, saprofityczne i patogeniczne. Wszędzie tam, gdzie człowiek poprzez swoją działalność i bezkrytyczne eksploatowanie przyrody wpływa negatywnie na otaczające go środowisko dochodzi do istotnych zakłóceń w funkcjonowaniu ekosystemów. Wyeliminowanie z gleb leśnych całych zbiorowisk mikroorganizmów na skutek np. emisji przemysłowych powodujących zmiany w chemizmie gleb, prowadzi nieuchronnie do przerwania łańcucha troficznego, a w konsekwencji do złego odżywienia drzew, czyniąc je podatnymi na choroby. Jednym z istotnych składników życia biologicznego gleb leśnych są grzyby, a wśród nich grupa grzybów tworząca związki symbiotyczne z drzewami leśnymi. Efektem zaś tej symbiozy jest mikoryza, czyli wspólny organ złożony z grzyba i korzenia tzw. „grzybokorzeń”. Związki te tworzone są z korzeniami ostatniego rzędu, tzw. korzeniami krótkimi. Wyrastające z komórek skórki włósniki z chwilą wejścia korzeni w kontakt mikoryzowy zanikają, a ich funkcję przejmuje nowy organ zwany mikoryzą. W naturze występuje bardzo duża różnorodność form morfologicznych i anatomicznych mikoryz.

EKTOMIKORYZA (mikoryza zewnętrzna). W świecie roślin występuje zaledwie u około 10 % roślin, lecz w leśnictwie odgrywa ona rolę niezwykle ważną. Jest bowiem optymalną dla naszych drzew formą symbiozy. Strzępki grzyba wnikają pomiędzy ściany komórek miękiszu kory pierwotnej korzeni tworząc tzw. sieć Hartiga, ale nigdy nie przerastają komórek endodermy i nie wnikają do komórek walca osiowego. W rejonie sieci Hartiga następuje wymiana związków mineralnych i organicznych pomiędzy obu symbiontami: grzyb przekazuje roślinie m.in. sole mineralne, wodę, hormony i witaminy, a otrzymuje od niej głównie cukry, których z braku chlorofilu sam nie potrafi wytworzyć. Wokół korzeni krótkich, które uległy morfogenezie tworzy się opilśnia (mufka grzybniowa). Strzępki gr-

zyba wyrastają z powierzchni mikoryzy i przerastają środowisko glebowe, tworząc liczne rozgałęzienia i gęstą sieć, i to one pobierają z gleby wodę i substancje pokarmowe, które poprzez sznury grzybniowe wędrują do rośliny.

Mikoryzy ektotroficzne występują naturalnie w naszej strefie klimatycznej u wszystkich głównych gatunków lasotwórczych i jest to forma symbiozy decydująca o ich życiu. Ektotroficzne (odżywiające się przy pomocy ektomikoryz) są wszystkie gatunki z rodzaju *Pinus* (sosna), *Picea* (świerk), *Larix* (modrzew), *Abies* (jodła), *Pseudotsuga* (daglezja), *Tsuga* (choina), *Quercus* (dąb), *Fagus* (buk), czy *Carpinus* (grab). U pozostałych gatunków drzewiastych występować mogą także inne formy symbiozy grzybowej. Ektomikoryzy tworzone są głównie przez grzyby należące do podgromady *Basidiomycotina* (podstawczaki) z rzędu *Agaricales*. Szacuje się, że w tej strefie klimatycznej Europy występuje ich ponad 1400 gatunków.

ENDOMIKORYZA (mikoryza wewnętrzna). Ma miejsce wtedy, gdy strzępki grzyba wnikają do wnętrza komórek miękiszu kory pierwotnej korzenia i tam ulegają trawieniu. Korzenie nie ulegają istotnym przeobrażeniom morfologicznym, co nie odróżnia ich od korzeni autotroficznych (niemikoryzowych). Zachowują one włosniki, nie są zgrubiałe i nie są pokryte na zewnątrz strzępkami grzyba (opilśnią charakterystyczną dla ektomikoryz). Na powierzchni korzenia spotyka się sporadycznie strzępki grzybni. Endomikoryza jest w świecie roślin bardzo rozpowszechniona. Do tego typu symbiozy należy: mikoryza storczyków, mikoryza erikoidalna oraz arbuskularna. W pierwszych dwóch typach, wewnątrz komórek kory tworzą się zwoje grzybni, podczas gdy w mikoryzie arbuskularnej wykształcają się drzewkowate struktury zwane arbuskulami. Mikoryza arbuskularna jest najbardziej rozpowszechnionym typem mikoryzy. Występuje u ponad 80% gatunków roślin, ale w odróżnieniu od mnogości gatunków tworzących ektomikoryzy, mikoryzę arbuskularną tworzy zaledwie około 120 gatunków grzybów zaliczanych do rzędu *Glomales*. Ten typ symbiozy uważany jest za najstarszą filogenetycznie mikoryzę cechującą pierwsze rośliny lądowe, a jej okres istnienia w związku z tym szacuje się na ponad 450 milionów lat.

W naszej strefie klimatycznej endomikoryzy charakterystyczne są dla dziko rosnących roślin zielnych (m.in. runa leśnego), a także roślin uprawnych i drzew owocowych. Stosunkowo mało drzew leśnych tworzy związki endomikoryzowe. Są one charakterystyczne np. dla topoli, wierzby, jesionu, jarzębu, berberysu i trzmieliny. Niektóre drzewa leśne, jak np. klon, olsza, jałowiec, lipa, czy wiąz tworzą zarówno ektomikoryzę, jak i endomikoryzę w zależności głównie od warunków glebowych. Związki endomikoryzowe u roślin tworzone są przez grzyby z podgrupy *Ascomycotina* (workowce) lub *Zygomycotina* (sprzężniaki).

EKTENDOMIKORYZA. Jest formą pośrednią pomiędzy ekto- i endomikoryzą. Cechą charakterystyczną tej formy mikoryzy jest obecność niepozornej z reguły mufki grzybniowej wokół korzenia, także sieci Hartiga, ale strzępki grzyba zazwyczaj bezładnie przerastają komórki miękiszu kory pierwotnej i są przez roślinę słabo trawione. W warunkach stresowych najczęściej dochodzi do maceracji ścian komórkowych rośliny i stosunkowo szybkiego zamierania mikoryz. Ten typ symbiozy rozpowszechniony jest szczególnie w szkółkach, zwłaszcza o długim i intensywnym sposobie użytkowania, na glebach o wysokiej zawartości azotu i podwyższonym pH gleby. Tworzą go grzyby należące do workowców (*Ascomycotina*).

Wszystkie nasze drzewa leśne w warunkach naturalnych pobierają pokarm z gleby za pomocą mikoryzy, a nie włosników. Niezbędność grzybów mikoryzowych dla wzrostu i rozwoju większości drzew jest zatem faktem.

Związki ektomikoryzowe drzew z grzybami są tworzone tym chętniej, im ubóstwo pokarmowe w glebie jest większe. Warunkiem tworzenia mikoryz jest odpowiedni dostęp światła oraz współdziałanie hormonów syntetyzowanych przez grzyby. Utało się powiedzenie profesora Stefana Kowalskiego, że „grzyby mikoryzowe żywią i bronią”. Żywią, gdyż mają zdolności pobierania pokarmu ze związków zarówno organicznych, jak i nieorganicznych w glebie, niedostępnych dla korzeni autotroficznych. Przerastając zaś strzępkami grzybni glebę znacznie rozległej niż uczynić to mogą korzenie drzew, z większej powierzchni i sprawniej od nich pobierają sole mineralne. Strzępki w glebie, tworzone sznury grzybniowe oraz mufki grzybniowe wokół korzeni ostatniego rzędu z uwagi na

swoją gąbczastą budowę magazynują sole mineralne, a także spore ilości wody, przez co łagodzą wpływ okresów suszy.

Mikoryzy, oprócz funkcji fizjologiczno-żywnieniowych, chronią drzewa leśne przed grzybami i organizmami patogenicznymi, szczególnie atakującymi systemy korzeniowe. Ochronę taką stanowią mufki i opłisnie wokół korzeni krótkich. Mogą one także zwiększać odporność roślin na drodze biochemicznej, stymulując syntetyzowanie takich substancji chemicznych, jak na przykład związki fenolowe, czy fitoaleksyny będące odpowiedzialnymi za kształtowanie się odporności roślin na choroby. Sama grzybnia może także wydelać do gleby substancje biologicznie czynne o charakterze antybiotyków, hamując wzrost lub likwidując organizmy patogeniczne w pobliżu korzeni.

W praktyce leśnej już na etapie hodowli sadzonek spotykamy się często ze znacznymi szkodami spowodowanymi przez grzyby zgorzelowe na przykład zakaźną zgorzelą wywołaną przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora* i inne. Dzieje się tak najczęściej na szkółkach leśnych po długim okresie intensywnego użytkowania, w korytach i tunelach na sztucznym podłożu, więc wszędzie tam, gdzie brak jest w glebie odpowiedniego spektrum grzybów ektomikoryzowych, szybko wchodzących w kontakt mikoryzowy z siewką. Również i w uprawach, a także w starszych drzewostanach na glebach zdegradowanych np. pożarem lub emisjami i na gruntach porolnych, gdzie brak jest odpowiedniego zasobu grzybów ektomikoryzowych, obserwuje się wzmożone zamieranie drzew, spowodowane najczęściej podwyższoną predyspozycją chorobową rośliny oraz uaktywnianiem się i możliwością porażania drzew przez organizmy patogeniczne np. z rodzaju *Armillaria sp.*, czy *Heterobasidion annosum*. Drzewa rosnące w środowisku, w którym życie biologiczne gleb z różnych przyczyn zostało zubożone wykazują zakłócenia fizjologiczno-rozwojowe, w następstwie czego chorują, a nawet giną. Jest to podstawowa przyczyna osłabienia drzewostanów na prawie połowie ogólnej powierzchni lasów w Polsce będących pod wpływem emisji przemysłowych jak również drzewostanów na gruntach porolnych, zwłaszcza na glebach gorszych klas bonitacji.

Różnorodność grzybów tworzących związki ektomikoryzowe z drzewami leśnymi jest stosunkowo duża. Większość grzybów tworzących mikoryzy korzeniowe wytwarza owocniki w runie leśnym. Należą do nich zarówno grzyby jadalne, chętnie zbierane i poszukiwane (np. borowik szlachetny), jak również grzyby niejadalne i trujące, często niszczone bezmyślnie (np. muchomor plamisty). Szacuje się, że grzybów wielkoowocnikowych tworzących ektomikoryzy występuje w Polsce, około 1400 gatunków (A. Grzywa-cz 2000 r.). Należą do nich m.in.. grzyby z rodzaju : *Cortinarius* - zasłonak (240 gatunków), *Russula* - gołąbek (116 gatunków), *Inocybe* - strzępiak (112 gatunków), *Lactarius* - mleczaj (71 gatunków), *Tricholoma* - gąska (50 gatunków), *Hebeloma* - włośnianka (26 gatunków), *Hygrophorus* - wodnica (26 gatunków), *Amanita* - muchomor (22 gatunki), *Dermocybe* - skórzak (20 gatunków), *Boletus* - borowik (15 gatunków), *Leccinum* - koźlarz (12 gatunków), *Suillus* - maślak (12 gatunków), *Elaphomyces* - jeleniak (8 gatunków), *Tuber* - trufla (8 gatunków), *Laccaria* - lakówka (7 gatunków), *Scleroderma* - tegoskór (7 gatunków), *Xerocomus* - podgrzybek (7 gatunków), *Thelephora* - chropiatka (6 gatunków) i wiele, wiele innych.

Tworzenie związków symbiotycznych roślin z grzybami przebiega w przyrodzie w sposób dynamiczny, podlegając ciągłym zmianom. O tym, który z grzybów nawiąże kontakt mikoryzowy decyduje między innymi gatunek drzewa, faza rozwoju drzewostanu, a także siedlisko. Zjawisko to jest zmienne na przestrzeni okresu wegetacyjnego. Niektóre rodzaje (*Boletus*, *Hebeloma*) grzybów tworzą związki mikoryzowe z wieloma gatunkami drzew, a inne wyspecjalizowały się w tworzeniu mikoryz tylko z jednym (np. *Suillus grevillei* z modrzewiem, czy *Rhizopogon hteolus* z sosną).

Garnitur grzybów mikoryzowych zmienia się także wraz z wiekiem drzewa. Inne gatunki grzybów tworzą mikoryzy z siewkami i sadzonkami, a inne z drzewami w fazie tyczkownicy, drągownicy, czy drzewostanów starszych.

Dla każdego gatunku drzewa w powiązaniu z określonym środowiskiem (siedliskiem) można dziś ustalić zestaw grzybów, a także możliwe rodzaje mikoryz. Ta wiedza może posłużyć dla określenia zagrożeń hodowli drzew i podejmowania konkretnych decyzji gospodarczych. Wiedząc bowiem, że właściwym genetycznie ukształtowanym sposobem odżywiania jest mikotroficzny, a nie autotroficzny sposób zdobywania pokarmu oraz, że

ektomikoryzy pełnią szereg innych funkcji determinujących prawidłowy rozwój drzew, można określić obszary w gospodarce leśnej, w których brak jest warunków zapewniających w miarę niezakłócony wzrost i rozwój drzew.

Do takich obszarów należeć będą :

- 1) szkółki o długim i intensywnym okresie użytkowania,
- 2) grunty porolne przeznaczone do zalesienia,
- 3) nieużytki i gleby przemysłowe rekultywowane,
- 4) gleby leśne zdegradowane emisjami przemysłowymi oraz przez wielkopowierzchniowe pożary itp.

## 2. Potrzeby mikoryzacji

Na początku lat 70-tych XX wieku rozpoczęto w nadleśnictwach proces likwidacji wielu małych szkółek leśnych urządzając zwykle jedną wielohekta-rową. Szkółki te wyposażano w infrastrukturę i nowoczesny sprzęt. Nastąpił także istotny postęp w nasiennictwie, przechowalnictwie nasion, selekcji i genetyce. Pod względem wyposażenia i jakości produkcji szkółki polskich Lasów Państwowych nie ustępują zachodnim. Zniknął problem braku sadzonek. Roczna produkcja materiału sadzeniowego wynosi około 1 mld 400 mln sztuk sadzonek. Są jednak jeszcze szkółki, które wykazują duży stopień degradacji mikrobiologicznej.

Z przeprowadzonych badań wynika, że sadzonki iglaste hodowane w szkółkach gruntowych o wieloletnim okresie użytkowania, wykazują znaczne zakłócenia fizjologiczno-rozwojowe, spowodowane zanikiem grzybów ektomikoryzowych. Wynika to między innymi ze zmiany chemizmu gleby (często nadmiernie alkalicznej), powodowanego nadmiernym nawożeniem, zwłaszcza związkami azotu, a także z powszechnego stosowania środków ochrony roślin, zwłaszcza fungicydów i herbicydów, które stosowane często i w większych dawkach niszczą grzyby ektomikoryzowe. Brak grzyba powoduje podatność siewek na choroby i konieczność częstszego stosowania środków ochrony roślin, a także nawozów, co jeszcze bardziej degraduje glebę. Powstaje zatem zjawisko sprzężenia zwrotnego dodatniego (tzw. „błędne koło”).

Sadzonki w tych warunkach tworzą najczęściej związki ektendomikoryzowe nie będące właściwym skojarzeniem symbiotycznym dla drzew leśnych. W samych szkółkach nie powoduje to często widocznych oznak zewnętrznych w wyglądzie sadzonek. Jeżeli takie sadzonki wysadzone zostaną w glebę leśną niezdegradowaną, to najczęściej w stosunkowo krótkim czasie 2-3 sezonów wegetacyjnych dochodzi do wyparcia grzybów tworzących ektendomikoryzy przez grzyby ektomikoryzowe. Jeżeli sadzonek takich użyjemy do zalesień gleb zdegradowanych, nieużytków porolnych itd., gdzie nie znajdą stosownych grzybów ektomikoryzowych, to z powodu niemożności właściwego odżywiania wystąpią negatywne konsekwencje. Mikoryzy ektendotroficzne funkcjonują bowiem jedynie przez 2-3 miesiące, a potem zamierają, co prowadzi do dużego osłabienia sadzonek i drzewek, czyniąc je podatnymi na działanie czynników chorobotwórczych.

Innym problemem jest dosyć częsta w Lasach Państwowych hodowla sadzonek na sztucznych podłożach z zakrytym lub odkrytym systemem korzeniowym (namioty, koryta, inspekty, doniczki, baloty, kontenery itp.). Podłoża te z reguły nie są zaopatrzone we właściwe mikroorganizmy. Jeśli do takiego substratu dodamy niewielkie ilości humusu (5-10% objętości) spod drzewostanu o zdrowym samosiewie tego samego gatunku, to możliwe jest zainicjowanie mikoryz. Inicjacja taka jest również możliwa, jeśli szkółka otoczona jest lasem. Można się wtedy spodziewać naturalnej mikoryzacji zarodnikami grzybów. Najczęściej jednak z powodu braku właściwych grzybów mikoryzowych siewki tworzą ektomikoryzy z grzybami niepożądanymi jak np. *Thelephora terrestris*.

W ostatnim stuleciu zwłaszcza w rejonach uprzemysłowionych nasiliły się choroby lasów prowadząc do ograniczenia ich wielorakich funkcji, a nawet zniszczenia. Do przyczyn tych zjawisk bez wątpienia należy degradacja biologiczna gleb spowodowana emisjami do gleby wielu trujących związków oraz błędy w gospodarce leśnej. Mając na uwadze powiększającą się powierzchnię gruntów leśnych zdegradowanych i po pożarach,

terenów przemysłowych, wzdłuż autostrad oraz realizację Krajowego Programu Zwiększania Lesistości, jest konieczność użycia do nasadzeń sadzonek drzew zaopatrzonych w odpowiednie mikoryzy. Stąd potrzeba sterowanej mikoryzacji sadzonek i rewitalizacji gleb w szkółkach.

Mikoryzowane sadzonki powinny być więc głównie stosowane do:

- zalesiania gruntów porolnych, zwłaszcza długo i intensywnie użytkowanych,
- obsadzania nieużytków, w tym szczególnie nieużytków przemysłowych,
- uproduktywiania gleb rekultywowanych,
- odnawiania gleb leśnych zdegradowanych przez emisje przemysłowe, pożary lub długoletnią niezgodność biocenozy z biotopem, w tym szczególnie na obszarach występowania huby korzeni *Heterobasidion annosum*, czy opieńki *Almillaria spp.*

Już obecnie istnieje w Polsce duży obszar potencjalnego zastosowania sadzonek mikoryzowanych. Szacuje się, że powierzchnie odpowiadające wyżej wymienionym kryteriom stanowią około 10 % całości prac zalesieniowych i odnowieniowych w Lasach Państwowych, a więc ok. 6-7 tys. hektarów rocznie.

W stosunku do roku 2000 na koniec dekady zadania w zakresie nasadzeń mogą wzrosnąć o 18%, natomiast w latach 2019-2020 38%. Użycie sadzonek mikoryzowanych do zalesień gruntów porolnych mogło by osiągnąć poziom 20% ogólnej liczby sadzonek wysadzanych na te grunty w 2010 roku i 40% w 2020 roku. Jest to propozycja tzw. mikoryzacji kroczącej (co któraś sadzonka jest sadzonką mikoryzowaną). Przez rozrost grzybni z sadzonki mikoryzowanej dochodziłoby do mikoryzacji systemu korzeniowego pozostałych sadzonek.

Przyjmując przewidywalny obszar prac nasadzeniowych oraz udział sadzonek mikoryzowanych ustalić można zredukowaną wielkość powierzchni do obsadzenia sadzonkami zmikoryzowanymi.

**Tabela 1: Wielkość powierzchni (w tys. ha) planowanych średniorocznie do sadzenia materiałem mikoryzowanym (wg A. Grzywacza).**

Okresy	Zalesienia łącznie	Zadania zagospodarowania	Nasadzenia specjalne	Razem w tys. ha
2001-2010	4.8	4.7	5.6	15.1
2011-2020	10.4	11.0	10.	31.4

Przyjmując w uproszczeniu, że na 1 ha nasadzeń potrzeba 10 tys. sadzonek, to zapotrzebowanie na sadzonki mikoryzowane w 2010 roku wyniosłoby około 150 mln sztuk, a w 2020 aż około 300 mln sztuk rocznie. W 2001 roku w kilku szkółkach Lasów Państwowych wyprodukowano łącznie ok. 3 mln sztuk sadzonek mikoryzowanych. Stanowi to zaledwie 0,2 % produkcji. Do roku 2010 produkcja ta powinna wzrosnąć 50-krotnie, do ok.10 %, a do roku 2020 aż 100-krotnie, do ok. 20% całej produkcji sadzonek. W przyjętym przez Lasy Państwowe programie na lata 2003-2005 dotyczącym upowszechnienia produkcji sadzonek mikoryzowanych zakłada się, że począwszy od 2003 roku ilość sadzonek mikoryzowanych zwiększy się do blisko 10 mln sztuk rocznie.

W roku 2002 w Lasach Państwowych funkcjonowały trzy laboratoria produkujące biopreparaty oparte na żywej grzybni wegetatywnej. Ich zdolność produkcyjna łącznie wystarczy do produkcji biopreparatu dla ok. 10 mln sztuk sadzonek z zakrytym systemem korzeniowym. Oznacza to, że posługując się dotychczasowymi technologiami, należałoby rozwinąć zarówno wytwarzanie biopreparatów, jak i produkcję sadzonek z zakrytym systemem korzeniowym. Można także udostępnić technologie, których właścicielem są Lasy Państwowe innym firmom w celu komercyjnej produkcji i zakupu biopreparatów.

Niezależnie od wdrożenia technologii mikoryzacji sadzonek w szkółkach kontenerowych przeprowadzone zostały przez Katedrę Fitopatologii Leśnej Akademii Rolniczej w Krakowie, pod kierunkiem prof. dr hab. Stefana Kowalskiego, udane próby z mikoryzacją sadzonek hodowanych na podłożach torfowych w korytach i tunelach foliowych. Wydaje się, że przerośnięty grzybnią po jednym okresie wegetacyjnym substrat będzie mógł być użyty do dalszej mikoryzacji podłoży w innym miejscu, czy też być zastosowany do gleb szkółek otwartych. Wymaga to jednak dalszych badań w zakresie procedur i warunków jego efektywnego wykorzystania. Realne jest także, iż odpowiedź na pytania w zakresie możliwości zastosowania biopreparatów grzybowych do rewitalizacji gleb w szkółkach będzie mogła być udzielona w ciągu najbliższych kilku lat, a to z uwagi na znaczne zaawansowanie badań.

### 3. Metody mikoryzacji

Można wyróżnić metody oparte o stosowanie naturalnego inokulum i sterowanej. W pierwszym przypadku zabieg polega na przeniesieniu nieznanego, ale prawdopodobnie zróżnicowanego ilościowo jak i jakościowo zbiorowiska grzybów mikoryzowych zasiedlających humus leśny do substratu hodowlanego. W drugim przypadku wprowadzamy do substratu ściśle określoną ilość *propagul* znanego grzyba mikoryzowego.

#### 3.1 Metoda naturalna

Polega na stosowaniu **naturalnego inokulum** w postaci humusu tj. gleby pobranej z warstwy ryzosferowej (5-10 cm od powierzchni), najlepiej z miejsc, w których wystąpił obfity i zdrowy samosiew. Inokulum to (w ilości 5-10%) należy mieszać z podłożem lub wprowadzić do gleby w szkółkach badając uprzednio jej właściwości chemiczne. Przy nieodpowiednim pH lub nadmiarze azotu zabieg może okazać się bezskuteczny. Można także moczyć sadzonki z nagim systemem korzeniowym w roztworze wodnym takiego humusu tuż przed wysadzeniem w uprawy.

Wadą takiego inokulum jest możliwość zakażenia patogenami wywołującymi pasożytniczą zgorzel siewek (*Fusarium sp.*, *Phytophthora sp.*, *Rhizoctonia sp.* i inne). Obecność nasion chwastów powoduje dodatkowe kłopoty z pielęgnacją siewek. Dotychczas nie opracowano zasad pozyskiwania humusu, co jest wadą tej metody, zważywszy, że ponad 95% najbardziej aktywnych korzeni drzew leśnych znajduje się na głębokości do 10 cm, a więc w warstwie zalecanej do eksploatacji. Z powyższych względów metodę tę można określić mianem lokalnego doświadczenia prowadzonego intuicyjnie przez gospodarzy terenu.

#### 3.2 Metody sterowanej mikoryzacji

##### **A. Stosowanie *inokulum zawierającego zarodniki* grzybów mikoryzowych.**

Do tego celu nadają się grzyby, które wytwarzają duże ilości zarodników, z rodzaju *Phisolithus* - purchatnica, *Scleroderma* - tęgoskór, czy *Rhizopogon* - piestrówka.

Pierwszym etapem w produkcji inokulum jest zbiór owocników w stanie dojrzałości, ale jeszcze przed pęknięciem. Następnie owocniki należy wysuszyć zwykle w temperaturze około 20-25°C przez około 2 doby. Po wysuszeniu do wilgotności 8-10% zarodniki przechowuje się w szczelnych opakowaniach w temperaturze 4-5°C. Inokulum sporządzane być może zależnie od sposobu wprowadzania w środowisko ryzosfery i przybierać formę:

- **stałą** - zarodniki mieszane z gliną, piaskiem, vermiculitem, a najlepiej z węglem drzewnym, który jest mikrobiologicznie czysty, a dodatkowo stymuluje kiełkowanie zarodników, i w tej postaci wprowadzane do substratu lub gleby,

- **płynną** - z zarodnikami zmieszany z wodą tuż przed zraszaniem substratu lub gleby. Do wody należy dodać środek chemiczny np. kilka kropli płynu do mycia naczyń

zmniejszającego napięcie powierzchniowe i ułatwiającego równomierne rozproszczenie zarodników w wodzie.

Zarodniki mogą być też umieszczane przy użyciu lepiszcza bezpośrednio na nasionach przed ich wysiewem lub też w formie zamkniętych otoczek z substancji koloidalnych i w tej postaci wprowadzane do gleby czy substratu.

Sporządzając „szczepionkę zarodnikową” w formie stałej z udziałem zmielonego węgla drzewnego najlepiej zachować proporcje 1:10, tj. 100g zarodników w 1000g węgla, co po wymieszaniu wystarcza na powierzchnię około 100 m<sup>2</sup> substratu hodowlanego. Kwaterę siewną należy obficie podlać. Na 1 m<sup>2</sup> gleby winna być zastosowana dawka 0,5-1g zarodników bez względu na rodzaj nośnika i formę szczepionki. Inoculum generatywne wprowadzane do gleby lub substratu. Ten rodzaj szczepionki jest wytwarzany i stosowany na szeroką skalę w USA głównie z grzyba *Pisolithus tinctorius*. Zaletą „szczepionki zarodnikowej” jest łatwość jej sporządzania i możliwość dłuższego przechowywania w określonych warunkach. Wadą zaś między innymi brak wpływu na regularność owocowania i obfitość pojawu. Same zarodniki dają co najmniej miesięczne opóźnienie w tworzeniu mikoryz w stosunku do inoculum vegetatywnego. Opóźniona kolonizacja systemu korzeniowego przez grzybnię ma negatywne znaczenie w warunkach konkurencji ze strony innych organizmów grzybowych, w tym patogenicznych. Bowiem może się zdarzyć, że grzyb niepożądany lub szkodliwy zasiedli szybciej wolną przestrzeń życiową wokół korzeni sadzonki, nie dając możliwości rozwoju zaszczipionemu grzybowi ektomikoryzowemu. W tej metodzie nie jesteśmy w stanie skutecznie kontrolować procesu mikoryzacji, a tym samym udatność szczepień i stopień kolonizacji korzeni przez grzybnię są trudno przewidywalne.

#### **B. Stosowanie inoculum vegetatywnego z żywą grzybnią grzyba ektomikoryzowego.**

Inoculum wprowadza się do podłoża lub substratu tuż przed siewem lub szkółkowaniem. Zanim jednak rozpocznie się masową produkcję należy wyselekcjonować szczep grzyba biorąc pod uwagę takie jego cechy mikoryzo-genne, jak : tempo nawiązywania kontaktu grzyba z rośliną, stopień opanowania systemu korzeniowego, budowę sieci Hartiga, grubość mufki grzybniowej, wpływ na wzrost i rozwój rośliny, a także aktywność antagonistyczną do grzybów patogenów i tolerancję na środki chemiczne, skażenie gleb oraz na zróżnicowane pH roztworów glebowych. Nie bez znaczenia są też: żywotność grzybni, łatwość namnażania i zdolność tworzenia mikoryz z wieloma gatunkami drzew. Cechy decydujące o zgodności szczepu ze środowiskiem mają w dalszym życiu sadzonki podstawowe znaczenie. Sprawdzianem wartości sadzonek będą efekty hodowlane uzyskiwane na uprawach z nich założonych w porównaniu do sadzonek niemikoryzowanych lub o przypadkowej mikoryzie.

W produkcji biopreparatów grzybów mikoryzowych wyróżnić można dwa etapy. Etap pierwszy (wg S. Kowalskiego) obejmuje wszystkie elementy omówione wyżej. Dopiero wyselekcjonowane szczepy grzybów mogą być zastosowane do realizacji drugiego etapu, który obejmuje:

- hodowlę dużej masy grzybni w jak najkrótszym czasie i jak najniższym kosztem,
- przygotowanie odpowiedniej formy biopreparatu.

Do sterowanej mikoryzacji sadzonek stosuje się oczywiście te gatunki grzybów, których przyrodzoną cechą są związki symbiotyczne z wczesnymi stadiami rozwojowymi drzew. Do takich grzybów należą:

- ▪ *Amanita muscaria* - muchomor czerwony,
- ▪ *Cenococcum geophilium* - czerniak pospolity,
- ▪ *Hebeloma crustuliniforme* - włośnianka rosista,
- ▪ *Laccaria bicolor* - lakówka dwubarwna,
- ▪ *Laccaria laccata* - lakówka pospolita,
- ▪ *Scleroderma citrinum* - tęgoskór pospolity,

- ▪ *Suillus bovinus* - maślak sitarz,
- ▪ *Suillus collinitus* - maślak rdzawobrzązowy,
- ▪ i inne.

W Polsce aktualnie do masowej produkcji biopreparatów grzybów ektomikoryzowych stosuje się szczepy grzyba *Laccaria laccata*, *Laccaria bicolor* i *Hebeloma crustuliniforme*. Testowane są biopreparaty również i z innymi gatunkami grzybów.

Postęp badań pozwala założyć, że w ciągu najbliższych lat polskie Lasy Państwowe dysponować będą technologiami umożliwiającymi wielokrotnienie produkcji biopreparatów o większej różnorodności gatunkowej i szczepowej. Równolegle w kilku ośrodkach naukowych prowadzone są badania nad bakteriami towarzyszącymi w ryzosferze mikoryzom, inicjującym ich powstanie i stymulującym ich rozwój. Bakterie te wspomagają mikoryzy i nazywane są potocznie „helperami” (z angielskiego mycorrhizal helper bacteria - MHB). Helperzy są specyficzne i selektywne dla określonego rodzaju grzyba, a nie rośliny. Dotychczasowe badania wykazały, że bakterie te mają duży wpływ na aktywność korzenia i jego przygotowanie na przyjęcie symbionta grzybowego i utworzenie mikoryz. Przy ich udziale odbywa się proces doboru - rozpoznania pomiędzy rośliną a grzybem. Jest to pierwszy, bardzo istotny etap procesu prowadzący do symbiozy. Te specyficzne bakterie mogą także wspomagać odżywianie grzybów ektomikoryzowych i ich wzrost w stadium przedsym-biotycznym, kiedy grzybnia znajduje się w glebie, a jeszcze nie nawiązała ścisłego związku z rośliną. Bakterie typu MHB modyfikują także pod względem fizykochemicznym glebę w ryzosferze ułatwiając w ten sposób infekcję mikoryzową. Procesy te polegają na lokalnej zmianie pH gleby, wiązaniu niektórych jonów służących bakteriom do produkcji substancji fenolowych, czy mikrocząsteczkowych peptydów zwanych sideroforami, mających także duże znaczenie w pobieraniu przez roślinę różnych kationów, m.in. żelaza. Bakterie MHB mogą inicjować i przyspieszać kiełkowanie zarodników, sklerocjów lub innych form spoczynku niezbędnych do przetrwania i rozprzestrzenienia grzyba mikoryzowego w glebie poprzez wydzielanie różnych związków chemicznych, np. aminokwasów.

Nie bez znaczenia jest fakt, że niektóre bakterie MHB są producentami antybiotyków i przez to mogą hamować rozwój grzybów patogenicznych w mikoryzosferze. Odrębnym zjawiskiem jest występowanie bakterii w owocnikach grzybów mikoryzowych, a zwłaszcza wiążących azot z powietrza. Przypuszcza się, że stymulują obfitość zarodnikowania. Zastosowanie bakterii typu MHB w wytwarzaniu i przygotowywaniu do użycia biopreparatów miko-ryzowych z żywą grzybnią mogłoby mieć ważne znaczenie w praktyce leśnej.

Przypuszcza się, że zastosowanie tych bakterii może spowodować znaczne oszczędności w ilości inoculum grzyba mikoryzowego, użytego do szczepień, poprawić jakość materiału szkółkarskiego i jego przydatność do zalesień, w szczególności gleb zdegradowanych. Tak więc hodowla bakterii typu MHB powinna się odbywać równolegle z produkcją biopreparatów i być włączona w technologię mikoryzacji. Problem polega na tym, że aktualna wiedza w tym zakresie jest fragmentaryczna. W Polsce badania w tym zakresie prowadzone są m.in. na Uniwersytecie im. Mikołaja Kopernika w Toruniu. Według uzyskanej informacji Zakład Mikrobiologii tegoż Uniwersytetu dysponuje już wyizolowanymi szczepami bakterii, które możnaby użyć przy produkcji biopreparatów mikoryzowych i sterowanej mikoryzacji. Wymagane są jednak dalsze badania w tym zakresie, a przede wszystkim ścisła współpraca specjalistów od mikoryz z mikrobiologami i leśnikami. Współżycie organizmów glebowych w środowisku leśnym jest wielce zróżnicowane i jego poznanie potrzebuje rozległej wiedzy z różnych dziedzin.



#### **4. Zarys technologii sterowanej mikoryzacji oraz podstawowe różnice w hodowli sadzonek z zakrytym systemem korzeniowym niemikoryzowanych i mikoryzowanych**

Szkółkarstwo kontenerowe otworzyło w Polsce drogę do wdrożenia technik i technologii szczepień sadzonek drzew leśnych biopreparatami mikoryzowymi. Dalszym, rozpoczętym już etapem jest praktyczna i na dużą skalę uruchomiona produkcja mikoryzowanego materiału sadzeniowego.

Do roku 2002 na skalę gospodarczą stosowano głównie biopreparaty z żywą grzybnią wegetatywną *Laccaria bicolor* oraz *Hebeloma crustuliniforme*. Testowane były biopreparaty z innymi gatunkami grzybów, które w najbliższym czasie wprowadzone zostaną do produkcji. Technologie mikoryzacji sadzonek w obu przypadkach, tj. zarówno przy użyciu biopreparatu z grzybem *Laccaria*, jak i grzybem *Hebeloma* zostały dostosowane do technologii i cyklu produkcji sadzonek w szkółce kontenerowej. Biopreparat dodawany jest w odpowiedniej proporcji do substratu bezpośrednio przed napełnianiem i obsiewem cel. Podjęto również próby hodowli sadzonek mikoryzowanych w różnego typu pojemnikach poza szkółkami kontenerowymi oraz szczepień mikoryzowych w inspektach, skrzyniach, tunelach foliowych i w szklarniach. Pierwsze tego typu próby dały pozytywny wynik o czym świadczy wysoka udatność i dobra jakość sadzonek, a także zadowalający stopień zasiedlenia systemów korzeniowych przez grzyby podawane w szczepionce. Z dużym uogólnieniem (ze względu na ochronę *know-how*) można powiedzieć, że niezależnie od wartości mikoryzogennych biopreparatu i jego żywotności uzyskanie wysokiego procentu zmikoryzowania sadzonek zależy w dużym stopniu od:

- utrzymania odpowiednich, ściśle założonych reżimów sanitarnych i technologicznych,
- odpowiedniej jakości i składu substratu hodowlanego, a w szczególności jego czystości mikrobiologicznej, pojemności powietrznej i wodnej oraz pH,
- terminu siewu, który jest zarazem terminem wprowadzania biopreparatu do substratu hodowlanego,
- właściwego nawożenia mineralnego,
- odpowiedniego nawadniania i utrzymania optimów temperaturowych, zwłaszcza w początkowej fazie produkcji sadzonek.

Do produkcji sadzonek mikoryzowanych stosuje się sterylizowany substrat torfowy o nieco innych parametrach, odpowiedniej pojemności powietrznej i wodnej. W tym celu do torfu wysokiego stosuje się dodatki perlitu i vermikulitu według ustalonych proporcji. Ze względu na wrażliwość większości grzybów na poziom azotu zupełnie odmiennie niż w tradycyjnej hodowli przebiega proces nawożenia. Po dodaniu do substratu niewielkich dawek nawozów o powolnym czasie uwalniania składników nie stosuje się już żadnego nawożenia. Ważnym elementem jest utrzymanie odpowiedniej wilgotności substratu. Szczegółowe warunki i zalecenia są ujęte w instrukcji objętej klauzulą poufności. Personel każdej szkółki, która produkuje sadzonki mikoryzowane musi być odpowiednio przeszkolony.

Dotychczas większość biopreparatów wytwarzana była w laboratorium szkółki kontenerowej w Nadleśnictwie Rudy Raciborskie i tam stosowana przy hodowli sadzonek z zakrytym systemem korzeniowym.

Biopreparat z grzybem *Laccaria bicolor* produkowany jest w oparciu o technologię francuskiej firmy ROBIN, a biopreparat z *Hebeloma crustuliniforme* według polskiej technologii, której głównym autorem jest prof. dr hab. Stefan Kowalski z Katedry Fitopatologii Leśnej Akademii Rolniczej w Krakowie. Technologia ta nadal jest rozwijana i doskonalona. Przeprowadzone zostały udane testy „polowe” z innymi gatunkami. W roku 2001 powstały dwa nowe laboratoria do produkcji biopreparatów według polskiej technologii: w Nadleśnictwie Rudy Raciborskie i w Leśnym Banku Genów w Kostrzycy.

W ciągu trzech lat (1998-2000) wyhodowano w szkółce kontenerowej w Nadleśnictwie Rudy Raciborskie blisko dwa miliony sztuk sadzonek zmikoryzowanych oboma bioprepa-

ratami. Szczepionki z grzybem *Laccaria* użyto do mikoryzacji 4 gatunków, tj. sosny pospolitej, modrzewia europejskiego, buka pospolitego, dębu szypułkowego, a z grzybem *Hebeloma* 7 gatunków, oprócz w/w także świerka pospolitego, brzozy brodawkowatej i lipy drobnolistnej uzyskując przeciętnie ponad 90 % sadzonek zmikoryzowanych. Efektywność mikoryzacji była zdecydowanie wyższa przy użyciu biopreparatu z grzybem *Hebeloma*, również *Hebeloma* dała wyższy, blisko 99 % stopień zmikoryzowania systemu korzeniowego. Bryłka korzeniowa jest bardzo mocno przerośnięta białą grzybnią tworzącą zwartą całość. Korzenie w odróżnieniu od sadzonek niemikoryzowanych nie wyrastają poza pojemnik przez szczeliny boczne czy ażurowe dno.

Koszt mikoryzacji jednej sadzonki z zakrytym systemem korzeniowym w roku 2000 w Nadleśnictwie Rudy Raciborskie pokazuje tabela 2.

**Tabela 2: Koszty mikoryzacji sadzonek w szkółce kontenerowej**

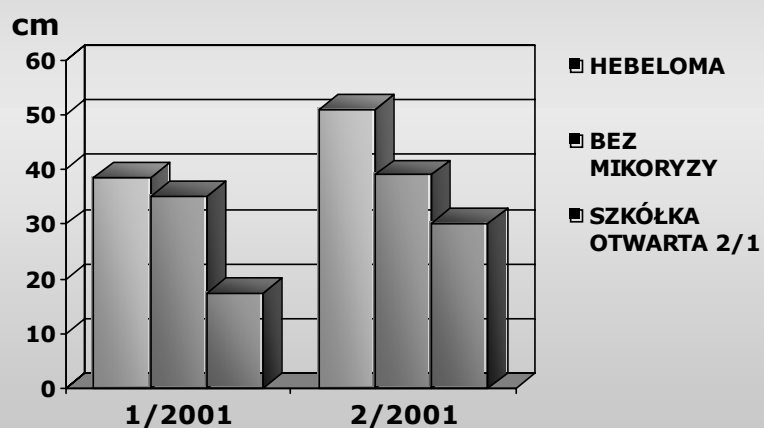
Lp.	Wyszczególnienie	Technologia	
		francuskiej firmy ROBIN	polska prof. S. Kowalskiego
1.	Całkowity koszt produkcji przypadający na 1 sadzonkę (wraz z kosztami amortyzacji laboratorium i wyposażenia)	0.12 zł/szt.	0.08 zł/szt
2.	Koszty inokulacji dla 1 mln sadzonek: - sterylizacja substratu - 5100 zł - komponenty- 23500 zł - robocizna- 11000 zł Razem- 39600 zł	0,04 zł/szt.	0,04 zł/szt.
3.	Całkowity koszt mikoryzacji 1 sadzonki	<b>0.16 zł/szt.</b>	<b>0.12 zł/szt.</b>

Z wyhodowanych sadzonek zmikoryzowanych założone zostały w nadleśnictwach Rudy Raciborskie, Swierklaniec i Chrzanów (RDLP Katowice) uprawy porównawcze na glebach o różnym stopniu degradacji oraz na gruntach porolnych.

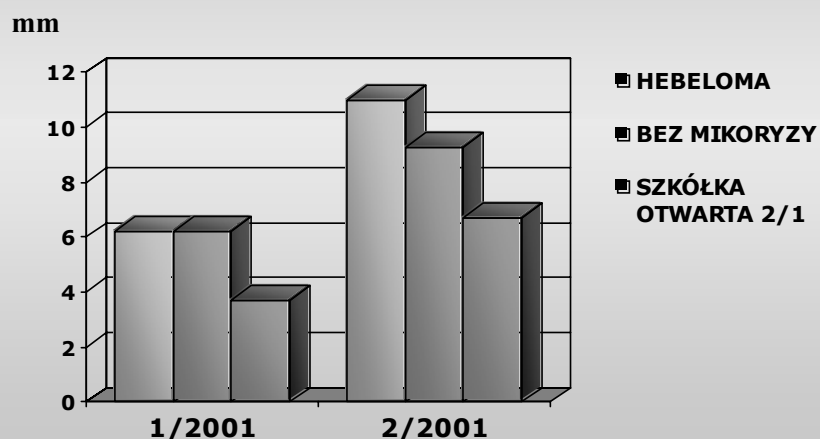
Należy mieć jednak świadomość, że mikoryzacja sadzonek nie stanowi panaceum na wszystkie problemy wynikłe z degradacji gleb, zwłaszcza wobec olbrzymiego bogactwa i złożoności życia biologicznego oraz wzajemnych zależności organizmów w naturze. W naturalnych warunkach wszystkie organizmy aktywnie uczestniczą w obiegu materii i żyją we względnej równowadze, przez co mają wpływ na zdrowie lasu. Wszelka zatem ingerencja w środowisko powinna być przeprowadzana z pełną świadomością możliwych skutków. Jest to zwłaszcza istotne w przypadku tak złożonego układu, jakim jest środowisko leśne. Obecny problem jednak polega na tym, że ingerencja ta już nastąpiła. Mamy przecież olbrzymie powierzchnie gleb w różnym stopniu zdegradowanych. Wszędzie zatem tam, gdzie organizmy glebowe warunkujące prawidłowe funkcjonowanie sadzonek zostały zniszczone lub jest ich niedostatek, zainicjowanie mikoryzacji sterowanej jest pożądane i korzystne, a często zgoła niezbędne dla uzyskania pozytywnych rezultatów hodowlanych.

## 5. Aneks – ilustracje dokumentujące pozytywny wpływ mikoryz

**Porównanie średniego przyrostu wysokości sadzonek po dwóch latach wzrostu na uprawach**



**Porównanie średniego przyrostu grubości w szyi korzeniowej sadzonek po dwóch latach wzrostu na uprawie**



**Procent wypadów sadzonek na uprawach  
doświadczalnych**

<b>UPRAWA</b>	<b>HEBELOMA</b>	<b>LACCARIA</b>	<b>BEZ MIKORYZ</b>	<b>SZKÓŁKA OTWARTA</b>
<b>1\2001</b>	<b>6,0</b>	<b>-</b>	<b>3,8</b>	<b>39,3</b>
<b>2\2001</b>	<b>8,4</b>	<b>-</b>	<b>10,0</b>	<b>20,4</b>
<b>1\2002</b>	<b>4,1</b>	<b>1,0</b>	<b>7,9</b>	<b>21,3</b>
<b>2\2002</b>	<b>7,7</b>	<b>3,6</b>	<b>27,2</b>	<b>19,5</b>

*Mgr inż. Kazimierz Szabla  
REGIONALNA DYREKCJA LASÓW PAŃSTWOWYCH  
W KATOWICACH - POLSKA*