

Wpływ podwyższonych koncentracji CO₂ na wzrost ryzomorfów opieńki ciemnej *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink w doświadczeniu *in vitro*

Influence of elevated CO₂ concentrations on the growth of *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink rhizomorphs *in vitro*

Paweł Lech^{1*}, Anna Żółciak²

Instytut Badawczy Leśnictwa, ¹Zakład Zarządzania Zasobami Leśnymi,
²Zakład Ochrony Lasu, Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyń

*Tel. +48 22 7153825, fax +48 22 7153837, e-mail: P.Lech@ibles.waw.pl

Abstract. A comparative experiment was carried out in growth chambers to determine the effects of elevated CO₂ concentrations (either 760 ppm or 1140 ppm) versus ambient CO₂ conditions on the growth of *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink rhizomorphs, which is the infectious organ of a fungal pathogen affecting many forest trees. We found that one out of three isolates in the experiment differed significantly in rhizomorph production, which was measured as rhizomorph dry mass/100 days of growth. Rhizomorph production was also affected by the tree species used as a food source in the inoculum preparation, with beech wood being significantly different from oak and hazel. Under higher CO₂ regimes the production of rhizomorphs was consistently lower for all three isolates compared to ambient CO₂ concentrations. For one isolate (no. 11) the growth differences were significant between 380 ppm and both elevated CO₂ concentrations (760 ppm and 1140 ppm), while for the other two (no. 30 and 32) significance was observed only between 380 ppm and 760 ppm. No statistically significant differences have been noted between 760 ppm and 1140 ppm CO₂ for these two isolates. It was concluded that elevated concentrations of CO₂ inhibited *A. ostoyae* rhizomorph growth and therefore have the potential to lessen the pathogenicity of the fungus.

Keywords: *Armillaria ostoyae*, CO₂, rhizomorph growth

1. Wprowadzenie

Ryzomorfy są organami infekcyjnymi opieńki, w tym również najgroźniejszego patogenu drzew leśnych z tego rodzaju w Polsce – opieńki ciemnej *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink. Stanowią one, obok transferu grzybnicy poprzez kontakty korzeni oraz zarodników, jedną z dróg rozprzestrzeniania się opieńkowej zgnilizny korzeni w drzewostanach (Żółciak 1999, 2005). Z tego względu morfologia, funkcje ryzomorfów, jak i zjawisko ryzomorfogenezy były od dawna przedmiotem wielu studiów (Hartig 1873; Mańka 1953; Jacques-Felix 1967, 1968; Redfern 1973; Rykowski 1984; Redfern, Filip 1991; Łakomy 2004; Guillaumin, Botton 2005; Guillaumin, Legrand 2005; Lung-Escarmant et al. 2005). Badano m.in. wpływ na powstawanie i wzrost ryzomorfów: etanolu oraz innych alkoholi, substancji wzrostowych (kwas o-aminobenzoesowy, p-palminobenzoesowy, indolo-3-octowy) (Pentland 1965, 1967; Garraway, Weinhold 1967, 1968 a, b; Garraway 1970; Sortkjaer, Allermann 1972a,

b, c), oraz nieorganicznych związków odżywczych (Morrison 1975; Rykowski 1984; Przybył 1998). Wykazano oddziaływanie wilgotności i temperatury gleby na przebieg procesu ryzomorfogenezy. Odpowiednia wilgotność warunkuje prawidłowe działanie merystemu apikalnego, czyli wzrost ryzomorfów (Rykowski 1984). Z kolei temperatura wpływa nie tylko na ich inicjację i rozwój, ale także na ilość i stopień rozgałęzień (Redfern 1973). Stwierdzono również reakcje tych struktur grzybowych na obecność tlenu i CO₂ w środowisku glebowym (Hintikka, Korhonen 1970; Hintikka 1974; Morrison 1976). Według Morrisona (1976) ryzomorfy preferują środowisko anaerobowe, a kierunek ich wzrostu w danym profilu glebowym zależy od wahań ciśnienia tlenu i CO₂. Hintikka (1974) wykazał stymulacyjne działanie CO₂ na wzrost ryzomorfów, co miało wyjaśniać ich wzrost w kierunku korzeni, które dyfundują CO₂ do gleby. Natomiast Olszyk i in. (2001) stwierdzili łatwiejsze formowanie się i rozwój w glebie leśnej inicjalnych kolonii grzybowych pod wpływem podwyższonego stężenia atmosferycznego dwutlenku

Wpłynęło: 2.02.2017 r., zrecenzowano: 29.03.2017 r., zaakceptowano: 26.04.2017 r.

węgla. Eksperymentalnie wykazano również zdolność grzybów rozkładających drewno, w tym opieńki, do asymilowania CO₂ z powietrza, przy czym intensywność tego procesu była niewielka, 1 gram struktury tkankowej grzyba zawierał około 0,017 mg węgla zasymilowanego z powietrza (Schinner, Concin 1981).

W nadchodzących dziesięcioleciach wzrost koncentracji CO₂ w powietrzu, obserwowany od około 200 lat, będzie następował coraz szybciej, osiągając – w zależności od przyjętego wariantu zużycia paliw kopalnych i wdrożonych modeli rozwoju gospodarczego – około 490–1250 ppm pod koniec bieżącego stulecia (Climate Change 2001). Doniesienia wskazujące na skutki oddziaływania podwyższonych koncentracji CO₂ w powietrzu na przebieg ryzomorfogenezy i produkcję ryzomorfów oraz kształtowanie się potencjału infekcyjnego opieńki ciemnej są wyjątkowo nieliczne. Istnieją jedynie prace Lecha i Żółciak (2006, 2017) – niestety uzyskane wyniki nie były jednoznaczne. W pierwszym badaniu stwierdzono stymulowanie wzrostu ryzomorfów w warunkach podwyższonej do 750 ppm koncentracji CO₂ w powietrzu, ale nie dochodziło jeszcze do porażania i zamierania siewek sosny, natomiast w drugim podniesienie stężenia CO₂ do 1000 ppm spowodowało wolniejszy przebieg procesu chorobowego i mniejszą śmiertelność 2-letnich sadzonek sosny i 3-letnich sadzonek świerka po upływie 16 miesięcy od wprowadzenia inokulum opieńki ciemnej.

Wpływowi zmian klimatycznych na inne grzybowe patogeny drzew leśnych nie poświęcono dotychczas zbyt wielu badań eksperymentalnych. Te które podejmowano odnosiły się do wpływu podwyższonych koncentracji CO₂ w powietrzu na kształtowanie się zagrożenia dębu i buka przez organizmy rodzaju *Phytophthora* (Fleischman et al. 2010; Tkaczyk et al. 2014; Oszaiko et al. 2016) oraz topoli przez rdzę *Melampsora medusa* Thümen (Percy et al. 2002). Również i w tym przypadku uzyskiwane wyniki były niejednoznaczne, autorzy stwierdzali zarówno stymulowanie, jak i brak wpływu podwyższonych koncentracji CO₂ w powietrzu na przebieg procesu chorobowego.

Niewielką liczbę prac poświęconych wpływowi przewidywanych zmian klimatu na patogeny grzybowe drzew leśnych, ich fragmentaryczność i niejednoznaczność uzyskiwanych wyników odnotowano w opracowaniach przeglądowych poświęconych tej problematyce (Manning, von Tiedemann 1995; Chakraborty et al. 2000; Garrett et al. 2006). Podkreślono, że badania są jedyną metodą wypełnienia luki w wiedzy z tego zakresu. Przesłanka ta była również przyczyną przeprowadzenia doświadczenia opisanego w niniejszym artykule. Jako hipotezę badawczą przyjęto stymulujący wpływ podwyższonych koncentracji CO₂ w powietrzu na wzrost ryzomorfów opieńki ciemnej.

2. Materiał i metodyka badań

W celu weryfikacji postawionej hipotezy przeprowadzono doświadczenie w sztucznym, kontrolowanym środowisku. Polegało ono na inicjowaniu rozwoju ryzomorfów opieńki

ciemnej z inokulum umieszczonego w szklanych, cylindrycznych i otwartych z obu stron pojemnikach wypełnionych piaskiem kwarcowym średnioziarnistym. Pojemniki z piaskiem poddano sterylizacji, a następnie umieszczono w nich inokulum opieńki ciemnej. Pojemniki z inokulum umieszczono w komorach klimatycznych i poddano przez około 6–7 miesięcy oddziaływaniu atmosfery o następujących koncentracjach dwutlenku węgla: 380 ppm (poziom kontrolny, odpowiadający stężeniu CO₂ w otaczającym powietrzu), 760 ppm i 1140 ppm (poziomy przekraczające 2- i 3-krotnie stężenie kontrolne). Pozostałe warunki doświadczenia przez cały czas jego trwania dla wszystkich wariantów były takie same. Utrzymywano stałą wilgotność względną powietrza (80%) i temperaturę (22°C), zaś w celu zapewnienia odpowiedniej wilgotności podłoża (piasku), w którym umieszczono inokula, stosowano nawadnianie – dwukrotnie w ciągu tygodnia, używając do tego wody dejonizowanej. Doświadczenia prowadzono w specjalistycznej komorze klimatycznej (Mytron WB 750).

Do produkcji inokulum wykorzystano 3 izolaty opieńki ciemnej. Uzyskano je z owocników i zainfekowanego korzenia martwego świerka, które pochodziły z 3 różnych drzewostanów świerkowych, położonych na terenie nadleśnictw: Ujsoły w Beskidzie Żywieckim oraz Wisła w Beskidzie Śląskim. Zbiór materiału badawczego, identyfikacji owocników opieńki do gatunku na podstawie cech morfologicznych owocników (Żółciak 1999) oraz identyfikacji uzyskanych czystych kultur za pomocą testów intersterylności (Korhonen 1978) dokonała dr inż. A. Żółciak. Jako bazy pokarmowej użyto drewna buka, dębu i leszczyny. Inokulum przygotowano według metodyki podanej przez Rykowski (1984) oraz Redferna i Filipa (1991). Odcinki gałęzi o długości 5–7 cm i średnicy 1,5–2 cm, po obmyciu i sterylizacji w autoklawie przez 40 minut w temp. 108°C pod ciśnieniem 0,05 MPa i powtórnej sterylizacji następnego dnia (w tych samych warunkach), inokulowano grzybnią izolatów opieńki ciemnej, a następnie inkubowano przez okres około 3 miesięcy.

Za kryterium rozwoju ryzomorfów przyjęto ich produkcję wyrażoną suchą masą, którą zważono, korzystając z wagi Sartorius analytic A200S (z dokładnością do 0,0001g) po około 6–7 miesiącach od umieszczenia pojemników z inokulum w komorach klimatycznych. W celu wykonania porównań i analiz statystycznych wyniki ważenia przeliczono na 100 dni wzrostu. Z uwagi na dużą liczbę obserwacji oraz kruchość ryzomorfów i ich łatwość w uleganiu zniszczeniu zrezygnowano z określenia innych parametrów biometrycznych, takich jak długość czy liczba aktywnych szczytów.

Łącznie na doświadczenie składało się 177 obserwacji, przy czym dla poszczególnych głównych czynników liczba obserwacji mieściła się w przedziale od 28 do 86, a dla interakcji od 10 do 30 (tab. 1). Układ doświadczenia opisać można następującym modelem:

$$SM = \text{Izolat} + CO_2 + \text{Gatunek drzewa użytego do produkcji inokulum} + \text{interakcja (Izolat} \times CO_2)$$

gdzie: *SM* – sucha masa ryzomorfów w przeliczeniu na 100 dni wzrostu,

Izolat – izolat opieńki ciemnej użyty do sztucznej inokulacji, *CO₂* – poziom koncentracji CO₂ zastosowany w doświadczeniu,

Gatunek drzewa użytego do produkcji inokulum – gatunek drzewa użytego jako baza pokarmowa do produkcji inokulum.

W statystycznym opracowaniu wyników zastosowano analizę wariancji z efektami głównymi: izolat opieńki ciemnej (nr 11, 30 i 32), koncentracja CO₂ w powietrzu (neutralna – około 380 ppm, podwyższone – 760 ppm i 1140 ppm) oraz gatunek drzewa użytego jako baza pokarmowa do produkcji inokulum (buk, dąb i leszczyna) i efektem interakcyjnym (izolat opieńki ciemnej) x (koncentracja CO₂ w powietrzu). W celu spełnienia założeń analizy wariancji (normalność rozkładu zmiennej oraz równość wariancji dla badanych kombinacji wariantów) dane poddano transformacji logarytmicznej (log). Do porównania średnich z wariantów (sucha masa ryzomorfów w przeliczeniu na 100 dni wzrostu) zastosowano test HSD Tukeya, uwzględniając poprawki ze względu na różne liczebności obserwacji w wariantach doświadczenia. Analizy przeprowadzono, korzystając z oprogramowania statystycznego Statgraphics Centurion XV.

3. Wyniki badań

Statystyczną charakterystykę wyników pomiaru suchej masy ryzomorfów w przeliczeniu na 100 dni wzrostu przedstawiono w tabeli 1. Spośród 3 użytych w doświadczeniu izolatów patogenu największą suchą masę ryzomorfów wytworzył izolat nr 11 (0,02186 g), pozostałe dwa (nr 30 i 32) miały wyraźnie niższe wartości tego parametru (odpowiednio 0,01229 g i 0,00909 g). Największą suchą masę cechowały się również ryzomorfy rosnące w kontrolnych (zblizonych do otoczenia) koncentracjach CO₂ w powietrzu (0,02923 g). Przy koncentracjach wyższych (760 ppm i 1140 ppm) sucha masa ryzomorfów była niższa (odpowiednio 0,00549 g i 0,00852 g). Wszystkie 3 izolaty wykazywały największą suchą masę ryzomorfów w przeliczeniu na 100 dni wzrostu przy 380 ppm CO₂ w powietrzu. W wyższych koncentracjach dwutlenku węgla w powietrzu sucha masa ryzomorfów była mniejsza, przy czym najniższe wartości tego parametru dla wszystkich zastosowanych izolatów uzyskano przy 760 ppm CO₂. Przy koncentracji 380 ppm CO₂ w powietrzu najwyższą średnią suchą masę ryzomorfów cechował się izolat nr 11 (0,05240 g), około 2,5-krotnie mniejszą izolat nr 30 (0,02174 g) oraz blisko 4-krotnie mniejszą izolat nr 32 (0,01355 g). Przy koncentracji 760 ppm CO₂ największą średnią suchą masę ryzomorfów stwierdzono dla izolatu nr 30 (0,00740 g), mniejszą o około 50% dla izolatu nr 32 (0,00558 g), a najmniejszą dla izolatu nr 11 (0,00349 g). W przypadku najwyższego zastosowanego w doświadczeniu stężenia CO₂ (1140 ppm) najmniejsza średnia sucha masa ryzomorfów charakteryzowała izolat nr 11 (0,00968 g), mniejsza izolat nr 32 (0,00815 g), a najmniejsza izolat nr 30 (0,00774 g) (tab. 1).

Wyniki wykonanej analizy wariancji przedstawiono w tabeli 2 oraz na rycinach 1 i 2. Wykazała ona statystyczną istotność różnic produkcji ryzomorfów opieńki ciemnej w przeliczeniu na 100 dni wzrostu dla wszystkich 3 efektów głównych doświadczenia *Izolat*, *gatunek drzewa użytego do produkcji inokulum* i *CO₂* oraz w przypadku interakcji *Izolat x CO₂* (tab. 2). Jak wykazały wyniki testu Tukeya, istotnie różną średnią suchą masą ryzomorfów cechował się izolat nr 11 oraz ryzomorfy rosnące z inokulum przygotowanego z użyciem drewna bukowego. Wzrost ryzomorfów różnił się istotnie dla każdego z zastosowanych poziomów koncentracji CO₂ i był największy przy stężeniu dwutlenku węgla wynoszącym 380 ppm, a najmniejszy w przypadku zastosowania koncentracji 760 ppm CO₂. Różnice pomiędzy suchymi masami ryzomorfów izolatów nr 30 i 32 nie były istotne, podobnie jak różnice pomiędzy średnimi dla tej cechy w przypadku zastosowania drewna dębu i leszczyny przy produkcji inokulum (ryc. 1).

Test Tukeya dla interakcji *Izolat x CO₂* wykazał istotność różnic średniej suchej masy ryzomorfów na 100 dni wzrostu. Dla izolatu nr 11 różnice te były istotne pomiędzy koncentracją 380 ppm i stężeniami podwyższonymi (760 ppm i 1140 ppm), natomiast dla izolatów nr 30 i 32 tylko pomiędzy koncentracjami 380 ppm i 760 ppm. Brak istotnych różnic suchej masy ryzomorfów stwierdzono pomiędzy koncentracjami CO₂ wynoszącymi 760 ppm i 1140 ppm dla izolatów nr 11 i 30 oraz pomiędzy koncentracjami 380 ppm i 1140 ppm dla izolatu nr 32 (ryc. 2).

4. Dyskusja

Wyniki wykonanego doświadczenia i przeprowadzonych analiz statystycznych nie potwierdziły postawionej hipotezy. Podwyższona do 760 ppm i 1140 ppm koncentracja CO₂ w powietrzu nie stymulowała wzrostu ryzomorfów opieńki ciemnej, a wręcz ten wzrost hamowała. Największą suchą masę ryzomorfów wszystkich 3 badanych izolatów patogenu zarejestrowano dla neutralnego stężenia dwutlenku węgla (380 ppm). Dla 1. izolatu różnice pomiędzy neutralną i obydwooma podwyższonymi koncentracjami CO₂ były statystycznie istotne, a dla pozostałych dwu izolatów różnice były istotne pomiędzy neutralną CO₂ i jedną z podwyższonych (760 ppm) koncentracją CO₂. Wyniki te korespondują zatem z rezultatami wcześniejszych badań (Lech, Żółciak 2017), w których stwierdzono wolniejszy przebieg procesu chorobowego i mniejszą śmiertelność sadzonek sosny i świerka poddanych sztucznej inokulacji opieńką ciemną, hodowanych w warunkach podwyższonego do 1000 ppm stężenia CO₂ w powietrzu. Wskazano w tych badaniach na hipotezę kompensacyjną (Herms, Mattson 1992), zakładającą ukierunkowaną alokację zwiększonych zasobów roślin na aktywne mechanizmy obronne względem oddziaływających czynników stresowych, jako możliwe wytłumaczenie mniejszej śmiertelności sadzonek. Nie wyklucza to jednak, że obok kompensacyjnego oddziaływania podwyższonej koncentracji CO₂ w powietrzu na rośliny, równocześnie wpływają one

Tabela 1. Wartości średniej suchej masy ryzomorfów w przeliczeniu na 100 dni wzrostu oraz odchylenie standardowe i granice przedziałów ufności średnich dla głównych czynników doświadczenia (izolat opieńki ciemnej, poziom koncentracji CO₂, gatunek drzewa użytego do produkcji inokulum) i interakcje: *Izolat x CO₂*

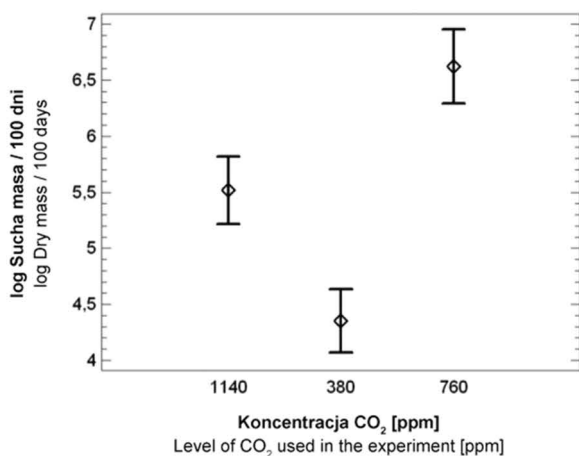
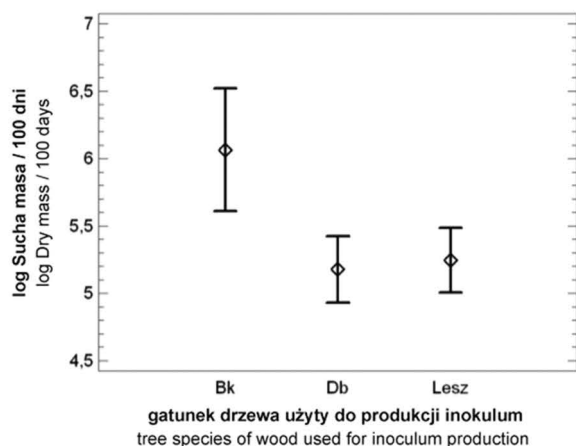
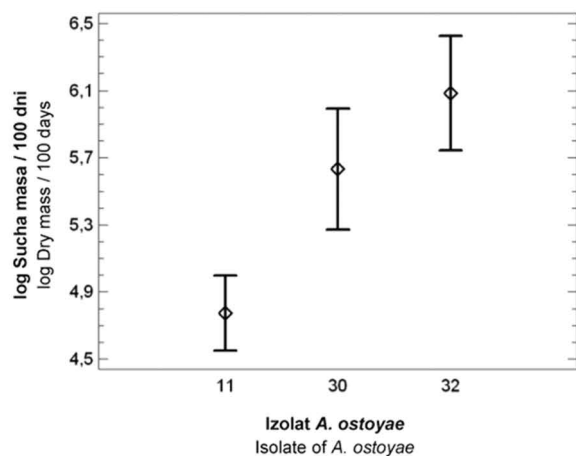
Table 1. Mean values of rhizomorphs dry mass per 100 days of growth and confidence limits for means for main effects (isolation of *A. ostoyae*, level of air CO₂ and tree species used for inoculum production) as well as for interaction: *isolate x level CO₂*

Czynniki Sources of variation	Liczba obserwacji / Number of observations	Średnia SM / 100 dni [g] Mean SM / 100 days [g]	95% granice przedziału ufności dla średniej 95% confidence intervals for means	
			dolna lower	górną upper
Cale doświadczenie/ Experiment total	177	0,01441	0,01363	0,01988
Izolat nr Isolate no.	11	0,02186	0,01906	0,02465
	30	0,01229	0,00777	0,01681
	32	0,00909	0,00480	0,01338
CO ₂ [ppm]	380	0,02923	0,02568	0,03277
	760	0,00549	0,00137	0,00961
	1140	0,00852	0,00473	0,01232
Gatunek drzewa użytego do produkcji inokulum Tree species used for inoculum production	Bk	0,01449	0,00879	0,02019
	Db	0,01430	0,01122	0,01738
	Lesz	0,01445	0,01143	0,01746
Interakcja (Izolat^x CO₂) Interaction (Isolate ^x CO ₂)	11 ^x 380	0,05240	0,04767	0,05713
	11 ^x 760	0,00349	-0,00150	0,00847
	11 ^x 1140	0,00968	0,00487	0,01449
	30 ^x 380	0,02174	0,01547	0,02800
	30 ^x 760	0,00740	-0,00107	0,01587
	30 ^x 1140	0,00774	0,00076	0,01471
	32 ^x 380	0,01355	0,00695	0,02015
	32 ^x 760	0,00558	-0,00141	0,01257
	32 ^x 1140	0,00815	0,00117	0,01513

Tabela 2. Wyniki analizy wariancji dla suchej masy ryzomorfów i przyjętego modelu doświadczenia. Pogrubioną czcionką zaznaczono różnice istotne statystycznie.

Table 2. Analysis of variance for rhizomorphs dry mass and adopted model of experiment. Statistically significant differences were marked with bold fonts.

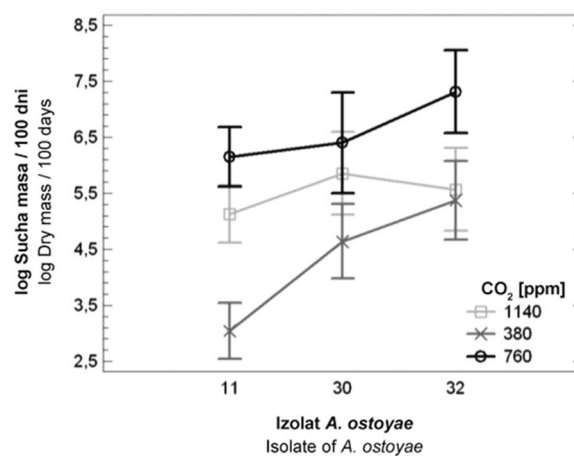
Źródło zmienności Sources of variance	Suma kwadratów Sum of squares	Stopnie swobody Degree of freedom	Średni kwadrat Mean square	F	P
A: Izolat / Isolate	46,51	2	23,25	15,19	<0,001
B: CO ₂	134,42	2	67,21	43,90	<0,001
C: Gatunek drzewa użytego do produkcji inokulum / Tree species used for inoculum production	13,83	2	6,91	4,52	0,012
Interakcja (AB) / Interaction (AB)	23,26	4	5,81	3,80	0,006
Reszty / Residuals	254,15	166	1,53		
Razem / Total	505,02	176			



Rycina 1. Średnia sucha masa ryzomorfów (wartości po transformacji logarytmicznej) i 95% przedziały ufności dla efektów głównych doświadczenia: użytego izolatu opieńki ciemnej, gatunku drewna wykorzystanego do produkcji inokulum oraz zastosowanej koncentracji CO₂

Figure 1. Means of rhizomorphs dry mass (after logarithmic transformation) and 95% confidence intervals for main effects of experiment: isolate of *A. ostoyae*, tree species of wood used for inoculum production and level of CO₂ used in the experiment

inhibycyjnie na wzrost ryzomorfów, obniżając w ten sposób potencjał infekcyjny patogenu. Obydwa te zjawiska mogą



Rycina 2. Średnia sucha masa ryzomorfów (wartości po transformacji logarytmicznej) i 95% przedziały ufności dla interakcji pomiędzy izolatami opieńki ciemnej (nr 11, 30 i 32) i koncentracją CO₂ (380 ppm oraz 760 ppm i 1140 ppm)

Figure 1. Means of rhizomorphs dry mass (after logarithmic transformation) and 95% confidence intervals for interaction: isolates of *A. ostoyae* (no. 11, 30 and 32) and level of CO₂ used in the experiment (380 ppm, 760 ppm and 1140 ppm)

zatem przyczynić się do spowolnienia przebiegu procesu chorobowego i osłabienia tempa zamierania sadzonek.

Wyniki przeprowadzonego badania są zasadniczo różne od rezultatów wcześniejszego doświadczenia (Lech, Żółciak 2006), w którym stwierdzono większą produkcję ryzomorfów z inokulum umieszczonych w pojemnikach z siewkami sosny hodowanymi przy 750 ppm CO₂ w powietrzu. Ponieważ nie dochodziło w tym przypadku do kontaktów ryzomorfów z korzeniami i porażania siewek sosny uznano, że silniejszy wzrost ryzomorfów był efektem stymulującego oddziaływania podwyższonej koncentracji CO₂ w powietrzu. Przemawiać za tym miała zdolność opieńki do asymilacji dwutlenku węgla (Schinner, Concin 1981). Obecnie wydaje się, że silniejszy wzrost ryzomorfów mógł mieć inną przyczynę – wyższą wilgotność powietrza i tym samym podłoża w komorach klimatycznych z podwyższoną koncentracją CO₂ w powietrzu. Siewki hodowano bowiem w komorach Mytron WB 750, z zastosowaniem kontrolera B-647 (MKS Instruments) i specjalnego hermetycznego pojemnika umożliwiającego utrzymanie zakładanej, podwyższonej koncentracji CO₂. Pojemnik ten nie posiadał przy tym możliwości regulacji poziomu względnej wilgotności powietrza, co mogło powodować wzrost i utrzymywanie się przez dłuższy czas po wykonaniu podlewania wysokiej wilgotności substratu, w którym rosły sadzonki i umieszczone były inokula opieńki ciemnej. Wysoka wilgotność podłoża, jak wykazano doświadczalnie, jest czynnikiem sprzyjającym wzrostowi ryzomorfów opieńki (Redfern 1973; Rykowski 1984).

5. Wnioski

Wyniki przeprowadzonego doświadczenia pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków:

- Podwyższona do 760 i 1140 ppm koncentracja CO₂ w powietrzu hamowała wzrost i rozwój ryzomorfów opieńki ciemnej z inokulów umieszczonych w piasku kwarcowym.
- Prognozowany wzrost stężenia dwutlenku węgla w powietrzu nie powinien w przyszłości powodować wzrostu ilości materiału infekcyjnego opieńki ciemnej.

Konflikt interesów

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów.

Podziękowania i źródła finansowania

Badania sfinansowano ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu badawczego nr rej. N309 019 31/2393.

Autorzy pragną wyrazić wdzięczność Recenzentom, których krytyczne uwagi pozwoliły znacząco poprawić manuskrypt artykułu, Pani dr inż. Joannie Ukalskiej za okazaną pomoc w wykonaniu obliczeń statystycznych oraz Panu Kari Korhonenowi za udostępnienie testerów do identyfikacji gatunków opieniek.

Literatura

- Charkaborty S., von Tiedemann A., Teng P.S. 2000. Climate change: potential impact on plant diseases. *Environmental Pollution* 108: 317–326. DOI 10.1016/S0269-7491(99)00210-9.
- Climate Change 2001. Synthesis Report. Summary for Policymakers. An Assessment of the Intergovernmental Panel on Climate Change. UNFCCC, 2001.
- Fleischmann F., Raidl W.F., Osswald W.F. 2010. Changes in susceptibility of beech (*Fagus sylvatica*) seedlings towards *Phytophthora citricola* under the influence of elevated atmospheric CO₂ and nitrogen fertilization. *Environmental Pollution* 158: 1051–1060. DOI 10.1016/j.envpol.2009.10.004.
- Garraway M.O. 1970. Rhizomorphs initiation and growth in *Armillaria mellea* promoted by o-aminobenzoic and p-aminobenzoic acids. *Phytopathology* 60: 861–865. DOI 10.1094/Phyto-60-861.
- Garraway M.O., Weinhold A.R. 1967. Ethanol-induced accumulation of a pentose in *Armillaria mellea*. *Canadian Journal of Microbiology* 12: 1705–1707. DOI 10.1139/m67-221.
- Garraway M.O., Weinhold A.R. 1968 a. Period of access to ethanol in relation to carbon utilization and rhizomorph initiation and growth in *Armillaria mellea*. *Phytopathology* 58: 1190–1191.
- Garraway M.O., Weinhold A.R. 1968 b. Influence of ethanol on the distribution of glucose C14 assimilated by *Armillaria mellea*. *Phytopathology* 58: 1652–1657.
- Garrett K.A., Dendy S.P., Frank E.E., Rouse M.N., Travers S.E. 2006. Climate change effects on plant disease: genomes to ecosystems. *Annual Review of Phytopathology* 44: 489–509. DOI 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143420.
- Guillaumin J.-J., Botton B. 2005. Ontogénie des armillaires. L'armillaire et le pourridié-agaric des végétaux ligneux. INRA, Paris, 151–175. ISBN 2-7380-1208-6.
- Guillaumin J.-J., Legrand P. 2005. Cycle infectieux de l'armillaire – Stratégie biologique des espèces européennes. L'armillaire et le pourridié-agaric des végétaux ligneux. INRA, Paris, 177–201. ISBN 2-7380-1208-6.
- Hartig R. 1873. Vorläufige Mitteilung über den Parasitismus von *Agaricus melleus* und dessen Rhizomorphen. *Botanische Zeitung* 31: 295–297.
- Harju A.M., Venalainen M., Anttonen S., Viitanen H., Kainulainen F., Vapaavuori E. 2003. Chemical factors affecting the brown-rot decay resistance of Scots pine hardwood. *Trees: Structure and Function* 17(3): 263–268. DOI 10.1007/s00468-002-0233-z.
- Herms D.A., Mattson W.J. 1992. The Dilemma of Plants: to Grow or Defend. *Quarterly Review of Biology* 67(3): 283–335.
- Hintikka V. 1974. Notes on the ecology of *Armillaria mellea* in Finland. *Karstenia* 14: 12–31.
- Hintikka V., Korhonen K. 1970. Effects of carbon dioxide on the growth of lignicolous and soil-inhabiting Hymenomycetes. *Communications Instituti Forestalis Fenniae* 62: 1–22.
- Jacques-Felix M. 1967. Recherches morphologiques, anatomiques, morphogénétiques et physiologiques sur des rhizomorphes de champignons supérieurs et sur le déterminisme de leur formation. *Bulletin trimestriel de la Société mycologique de France* 83: 9–103.
- Jacques-Felix M. 1968. Recherches sur la morphogénese des rhizomorphes et télépodes en culture pure. *Bulletin trimestriel de la Société mycologique de France* 84: 162–307.
- Korhonen K. 1978. Interfertility and clonal size in the *Armillaria mellea* complex. *Karstenia* 18: 31–42.
- Lech P., Żółciak A. 2006. Wzrost sadzonek sosny zwyczajnej i rozwój ryzomorf opieńki ciemnej w warunkach podwyższonej koncentracji CO₂ w powietrzu. *Leśne Prace Badawcze* 4: 17–34.
- Lech P., Żółciak A. 2017. Podatność sadzonek sosny zwyczajnej i świerka pospolitego na infekcje przez opieńkę ciemną w warunkach podwyższonych koncentracji CO₂ w powietrzu. *Sylwan* 161(5): 385–394.
- Lung-Escarmant B., Legrand P., Guillaumin J.-J., Guyon D. 2005. Épidémiologie. L'armillaire et le pourridié-agaric des végétaux ligneux. INRA, Paris, 203–219. ISBN 2-7380-1208-6.
- Łakomy P. 2004. Środowiskowe uwarunkowania zasiedlenia pników drzew liściastych przez wybrane gatunki grzybów saprotroficznych oraz grzyby rodzaju *Armillaria*. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu. Rozprawy naukowe* 355. 1–164.
- Manning W.J., von Tiedemann A. 1995. Climate change: potential effects of increased atmospheric carbon dioxide (CO₂), ozone (O₃) and ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases. *Environmental Pollution* 88: 219–245. DOI 10.1016/0269-7491(95)91446-R.
- Mańka K. 1953. Badania terenowe i laboratoryjne nad opieńką miodową - *Armillaria mellea* (Vahl.) Quel. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa* 94: 1–96.
- Morrison D.J. 1975. Ion uptake by rhizomorphs of *Armillaria mellea*. *Canadian Journal of Botany* 53: 48–51. DOI 10.1139/b75-006.
- Morrison D.J. 1976. Vertical distribution of *Armillaria mellea* rhizomorphs in soil. *Transactions of the British Mycological Society* 66: 393–399. DOI 10.1016/S0007-1536(76)80207-0.
- Olszyk D.M., Johnson M.G., Phillips R.J., Seidler D.T., Tingey D.T., Watrud L.S. 2001. Interactive effects of CO₂ and O₃ on ponderosa pine plant/litter/soil mesocosm. *Environmental Pollution* 115(3): 447–462. DOI 10.1016/S0269-7491(01)00234-2.
- Oszako T., Sikora K., Borys M., Kubiak K., Tkaczyk M. 2016. *Phytophthora quercina* infections in elevated CO₂ concentrations. *Folia Forestalia Polonica, series A*, 58(3): 131–141. DOI 10.1515/ffp-2016-0015.
- Pentland G.D. 1965. Stimulation of rhizomorph development of *Armillaria mellea* by *Aureobasidium pullulans* in artificial culture. *Canadian Journal of Microbiology* 11: 345–350. DOI 10.1139/m65-042.

- Pentland G.D. 1967. Ethanol produced by *Aureobasidium pullulans* and its effect on the growth of *Armillaria mellea*. *Canadian Journal of Microbiology* 13: 1631–1639. DOI 10.1139/m67-213.
- Percy K.E., Awmack C.S., Lindroth R.I., Kubiske M.E., Kopper B.J., Isebrands J.G., Pregitzer K.S., Hendrey G.R., Dickson R.E., Zak D.R., Oksanen E., Sober J., Harrington R., Karnosky D.F. 2002. Altered performance of forest pests under atmospheres enriched by CO₂ and O₃. *Nature* 420: 403–407. DOI 10.1038/nature01028.
- Przybył K. 1998. Effects of soil inorganic nutrients on rhizomorph growth by *Armillaria* sp. 9th International Conference of Root and Butt Rots of Forest Trees, str. 442. Carcans-Maubuisson (France), September 1-7, 1997. Ed. INRA, Paris, Abstr. ISBN 2-7380-0821-6.
- Redfern D.B. 1973. Growth and behaviour of *Armillaria mellea* rhizomorphs in soil. *Transactions of the British Mycological Society* 61: 569–581. DOI 10.1016/S0007-1536(73)80126-3.
- Redfern D.B., Filip G.M. 1991. Inoculum and infection, w: Shaw C.G., Kile G.A. (red.) *Armillaria Root Disease*. Agriculture Handbook, no. 691, U.S.D.A. Forest Service, 48–60.
- Rykowski K. 1984. Niektóre troficzne uwarunkowania patogeniczności *Armillaria mellea* (Vahl) Quél. w uprawach sosnowych. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa, seria A* 640: 1–140.
- Schinner F., Concin R. 1981. Carbon dioxide fixation by wood rotting fungi. *European Journal of Forest Pathology* 11(1–2): 120–123. DOI 10.1111/j.1439-0329.1981.tb00077.
- Sortkjaer O., Allermann K. 1972 a. Rhizomorph formation in fungi. I. Stimulation by ethanol and acetate and inhibition by Disulfiram of growth and rhizomorph formation in *Armillaria mellea*. *Physiologia Plantarum* 26: 376–380. DOI 10.1111/j.1399-3054.1972.tb01125.x.
- Sortkjaer O., Allermann K. 1972 b. Rhizomorph formation in fungi. II. The effect of 12 different alcohols on growth and rhizomorph formation in *Armillaria mellea* and *Clitocybe geotropa*. *Physiologia Plantarum* 28: 51–55. DOI 10.1111/j.1399-3054.1972.tb01125.x.
- Sortkjaer O., Allermann K. 1972 c. Rhizomorph formation in fungi. III. The effect of ethanol on the synthesis of DNA and RNA and uptake of Asparagine and phosphate in *Armillaria mellea*. *Physiologia Plantarum* 29: 129–133. DOI 10.1111/j.1399-3054.1972.tb01125.x.
- Tkaczyk M., Sikora K., Nowakowska J.A., Kubiak K., Oszako T. 2014. Effects of CO₂ enhancement on beech (*Fagus sylvatica* L.) seedling root rot due to *Phytophthora plurivora* and *Phytophthora cactorum*. *Folia Forestalia Polonica, series A* 56(3): 149–156. DOI 10.2478/ffp-2014-0016.
- Żółciak A. 1999. Identyfikacja gatunków grzybów z rodzaju *Armillaria* (Fr.: Fr.) Staude w Polsce. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa, seria A* 888: 3–19.
- Żółciak A. 1999. Występowanie grzybów z rodzaju *Armillaria* (Fr.: Fr.) Staude w kompleksach leśnych w Polsce. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa, seria A* 890: 29–40.
- Żółciak A. 2005. Opieńki. CILP, Warszawa, 1–111. ISBN 8388478-85-0.

Wkład Autorów

P.L. – koncepcja badań, przegląd literatury, metodyka, pomiary, opracowanie wyników badań, wykonanie analiz statystycznych, napisanie artykułu, korekta; A.Ż. – zebranie materiału badawczego w terenie i identyfikacja, przygotowanie inokulum, metodyka, przegląd literatury, pisanie pracy, korekta tekstu.