

GDK 180:181.351:181.45:106.203:172.8:161.38:161.4:174.7 *Picea abies* Karst: (497.12)

TIPI EKTOMIKORIZE - TAKSONOMIJA, POMEN IN APLIKACIJE

Hojka KRAIGHER*

Izvleček

Micelij mikoriznih gliv predstavlja osnovno povezovalno komponento v gozdnih ekosistemih, med gozdnim drevjem, pritalno vegetacijo in dekompozitorji v gozdnih tleh. V različnih sukcesijskih fazah gozda ter pod vplivi različnih stresnih dejavnikov se vrstna sestava in pogostost pojavljanja mikoriznih gliv spreminja. Učinkovitost sožitja med glivo in rastlino je odvisna od vrste glivnega partnerja, zato je identifikacija le-tega nujna pri študiju fiziologije gozdnega drevja in delovanja gozdnih ekosistemov. Posamezni tipi ektomikorize se ločijo po svojih morfoloških, anatomskih in fizioloških značilnostih. V prispevku je pregled anatomskih in molekularnih metod določanja tipov ektomikorize na primerih tipov ektomikorize iz nekaterih gozdnih sestojev v Sloveniji. Predlagamo perspektive tovrstnih raziskav v sklopu raziskav biološke raznovrstnosti in delovanja gozdnih ekosistemov ter bioindikacije onesnaženosti gozdnih rastišč.

Ključne besede: mikorizosfera, tipi ektomikorize, identifikacija, karakterizacija, vloga v ekosistemu, bioindikacija

TYPES OF ECTOMYCORRHIZAE - THEIR TAXONOMY, ROLE AND APPLICATION

Abstract

The mycelium of mycorrhizal fungi represents the main component of forest ecosystems which links forest trees, ground vegetation and decomposers in forest soils. The species diversity and occurrence of mycorrhizal fungi can change at different successional stages of the forest, and under the impact of different stress factors. The functional compatibility of the fungal and plant symbiont depends on fungus species, therefore its identification is essential for studies on the physiology of forest trees and the functioning of forest ecosystems. Different types of ectomycorrhizae show different morphological, anatomical and physiological characteristics. A review of the anatomical and molecular method for determination of ectomycorrhizal types is presented on a few examples of Norway spruce ectomycorrhizae from several forest sites in Slovenia. Possible perspectives of these studies within the framework of studies on biological diversity, the functioning of forest ecosystems and bioindication of forest site pollution are discussed.

Key words: mycorrhizosphere, types of ectomycorrhizae, anatomical characterisation, molecular identification, role in the ecosystem, bioindication

* dr., dipl. biol., dipl. inž. gozd., Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, SLO

VSEBINA

1	OPIS MIKORIZNE SIMBIOZE	35
2	RIZOSFERA, MIKORIZOSFERA IN HIFOSFERA.....	37
3	POMEN IN RAZŠIRJENOST OBLIK MIKORIZE	39
4	MEHANIZMI DELOVANJA MIKORIZE	44
5	UČINKOVITOST SOŽITJA IN TIPI EKTOMIKORIZE	45
5.1	Anatomska metoda določanja tipov ektomikorize.....	46
5.2	Molekularne metode določanja tipov ektomikorize.....	48
6	APLIKACIJE V GOZDARSTVU	50
6.1	Raziskave gozdnih ekosistemov in mikobioindikacija obremenjenosti rastišč.....	50
6.2	Umetna obnova in pogozdovanje	52
6.3	Gojenje užitnih mikoriznih gob.....	54
7	POVZETEK	55
	SUMMARY	55
	ZAHVALA	56
	VIRI.....	57
	PRILOGE.....	64

1 OPIS MIKORIZNE SIMBIOZE

Gozdni ekosistemi so funkcionalno in strukturno visoko organizirani sistemi biotskih in abiotskih komponent, povezanih v občutljivo dinamično ravnovesje. Posamezne komponente so povezane med seboj z micelijami mikoriznih gliv, ki živijo v simbiozi s koreninami rastlin. Prek njih poteka sprejem in prenos vode, hranil in asimilatov med gozdnim drevjem, pritalno vegetacijo, dekompozitorji in drugimi organizmi v gozdnih tleh.

Stalno simbiozo med koreninami in hifami gliv je FRANK leta 1885 imenoval mikoriza (gr. *mukes* - gliva, *rhiza* - korenina) in jo definiral kot glivno korenino, ki deluje kot organ za sprejem vode in hranil. Razlikoval je dve obliki mikorize, ektotrofno mikorizo (danes jo imenujemo ektomikoriza) in endotrofno mikorizo (danes jo imenujemo endomikoriza). V simbiozi prihaja do dvosmernega pretoka hranil in asimilatov iz rastline v glivo ter vode in hranil iz glive v gostiteljsko rastlino (HARLEY / SMITH 1983). Gostiteljski rastlini se spremeni dolgoživost korenin, odpornost korenin na vdor patogenih organizmov, sposobnost kopičenja in imobilizacije ali selektivne absorpcije ionov toksičnih težkih kovin. Vse to omogoča rastlini rast in razvoj v različnih stresnih pogojih v okolju.

Endomikorizo soustvarjajo neseptirane filamentne glive iz poddebla Zygomycotina (vrste iz rodov *Endogone*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Glomus*, *Sclerocystis*). Njihove hife lahko vstopajo v celice primarne skorje korenin, kjer lahko tvorijo spirale, grmičke (arbuskule) in vezikle. Prevladujoča oblika endomikorize, ki se je do nedavnega imenovala vezikularno-arbuskularna mikoriza (VAM) (po HARLEY / SMITH 1983), po novem se imenuje arbuskularna mikoriza (AM), se pojavlja pri večini (čez 90%) vrst rastlin (TESTER / SMITH / SMITH 1987).

V ektomikorizi tvori gliva plašč iz hif, ki objema korenino v absorpcijski coni. Iz glivnega plašča lahko izraščajo posamezne hife ali bolj ali manj diferencirani povezki hif (rizomorfi) v talni substrat. Hife se razraščajo tudi med celicami primarne skorje korenine in tvorijo kompliciran medcelularni sistem, imenovan Hartigova mreža. Ta sega največ do meje endoderma, nikoli v celice endoderma ali mednje in v centralni cilinder. Glive, ki soustvarjajo to mikorizo, sodijo v poddebla Ascomycotina (npr. *Elaphomyces*, *Tuber* itd.), Basidiomycotina (*Amanita*, *Hebeloma*, *Lactarius*, *Russula*, *Paxillus*, *Boletus*,

Suillus, *Thelephora*, *Rhizopogon*, *Scleroderma*, *Pisolithus* itd.), rod *Endogone* iz poddebla Zygomycotina in Deuteromycotina - Fungi Imperfecti (*Cenococcum*, *Chloridium* itd.) (HARLEY / SMITH 1983). Približno 3% vseh rastlin, predvsem gozdnih drevesnih vrst, je ektomikoriznih (MEYER 1973). Ektomikoriza nastopa pri vrstah iz družin *Pinaceae*, *Fagaceae*, *Betulaceae*, *Salicaceae* idr. (HARLEY / HARLEY 1987).

Preostale oblike mikorize imajo nekatere značilnosti obeh zgoraj opisanih oblik mikorize. Pregledno (po KILLHAM 1994 in HARLEY / SMITH 1983) jih delijo na:

- Ektendomikorizo, za katero sta značilna glivni plašč in Hartigova mreža, hife gliv pa vstopajo tudi v notranjost celic primarne skorje. Razvita je pri nekaterih, sicer ektomikoriznih rodovih cvetnic, soustvarjajo jo glive iz poddebel Ascomycotina in Basidiomycotina.
- Erikacejsko mikorizo, pri kateri ločimo arbutoidno in erikoidno mikorizo. Pri erikoidni ni razvit hifni plašč, hife gliv se razraščajo med celicami in znotraj celic primarne skorje. Razvita je pri družini *Ericaceae*, rodovih *Calluna*, *Vaccinium*, *Rhododendron*, *Erica*, soustvarjajo jo glive iz skupine Ascomycotina, predvsem rod *Pezizella*. Pri arbutoidni mikorizi je razvit hifni plašč, Hartigova mreža, hife pa se razraščajo tudi znotraj celic primarne skorje. Nastopa pri rastlinah iz družin *Pyrolaceae*, *Monotropaceae*, *Ericaceae* - rodova *Arbutus* in *Arctostaphylos*, soustvarjajo jo glive iz skupine Basidiomycotina (*Boletus*) idr. Nekateri avtorji (KILLHAM 1994) izdvajajo monotropoidno mikorizo, ki nastopa pri družini *Monotropaceae* kot posebno obliko mikorize, predvsem zaradi prenosa organskih hranil od glive k višji rastlini.
- Orhidacejsko mikorizo - pri tej tvorijo hife gliv spirale in druge skupke hif znotraj celic embrija in korenin rastlin iz družine kukavičnic (*Orchidaceae*). Glive sodijo v skupino Basidiomycotina in so sicer znane kot parazitske ali saprofitske glive na višjih rastlinah (npr. *Rhizoctonia*, *Armillaria*, *Coriolus*). Ta oblika predstavlja prehod med mutualistično in parazitsko obliko sožitja in tudi v njej se prenašajo organska hranila od glive k višji rastlini. Značilnosti posameznih oblik mikorize so pregledno prikazane v preglednici 1.

Preglednica 1: Značilnosti in simbioanti v različnih oblikah mikorize (prirejeno po HARLEY / SMITH 1983 in KILLHAM 1994)

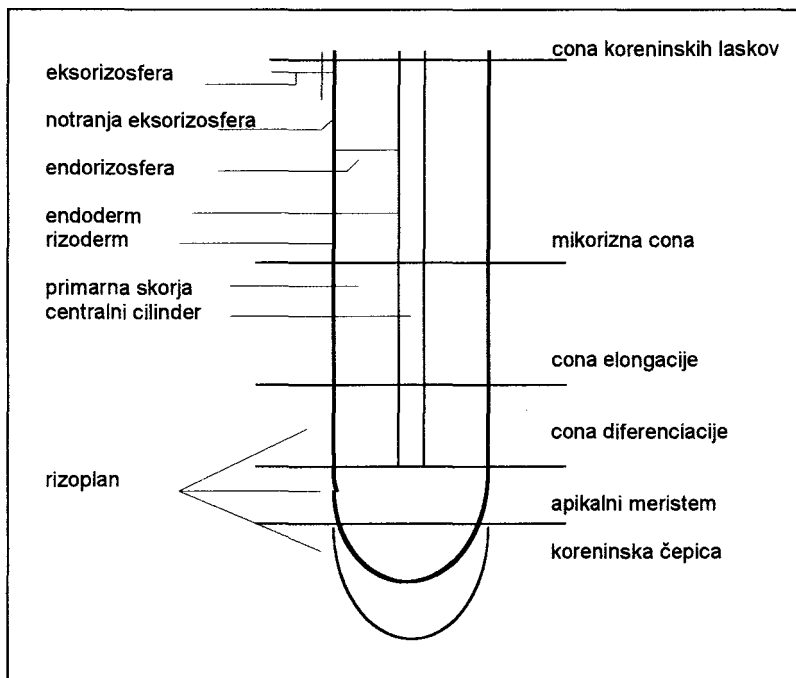
Table 1: Characteristical features and groups of symbionts constituting different forms of mycorrhizae (modified after HARLEY / SMITH 1983 and KILLHAM 1994)

Oblika mikorize	Značilnosti	Glive	Rastline
ektomikoriza	plašč, Hartigova mreža, izhajajoče hife in rizomorfi	<i>Zygomycotina</i> , <i>Ascomycotina</i> , <i>Basidiomycotina</i> , <i>Deuteromycotina</i>	<i>Pinaceae</i> , <i>Fagaceae</i> , <i>Betulaceae</i> , <i>Salicaceae</i> (v severnih zmernih in borealnih klimatih), <i>Dipterocarpaceae</i> (tropi), <i>Myrtaceae</i> , <i>Fagaceae</i> (južna polobla)
endomikoriza, najbolj pogosta arbuskularna mikoriza	arbuskuli-grmički in vezikli znotraj celic primarne skorje	<i>Zygomycotina</i> (<i>Endogone</i> , <i>Gigaspora</i> , <i>Acaulospora</i> , <i>Glomus</i>)	ca 90% vseh rastlinskih vrst (semenke, praprotnice, posamezni mahovi)
ektendomikoriza	plašč, Hartigova mreža, intracelularna razrast hif	<i>Ascomycotina</i> , <i>Basidiomycotina</i>	nekateri sicer ektomikorizni rodovi semenk
erikoidna mikoriza	inter- in intracelularna razrast hif	<i>Ascomycotina</i>	<i>Ericaceae</i>
arbutoidna mikoriza	plašč, Hartigova mreža in intracelularna razrast hif	<i>Basidiomycotina</i>	<i>Ericaceae</i> (<i>Arbutus</i> , <i>Arctostaphylos</i>)
monotropoidna mikoriza	plašč, Hartigova mreža in intracelularna razrast hif	<i>Basidiomycotina</i>	<i>Monotropaceae</i>
orhidacejska mikoriza	intracelularne spirale hif, prehod med simbiotsko in parazitsko obliko sožitja	<i>Basidiomycotina</i> (<i>Rhizoctonia</i> , <i>Armillaria</i> ...)	<i>Orchidaceae</i>

2 RIZOSFERA, MIKORIZOSFERA IN HIFOSFERA

Po definiciji (CURL / TRUELOVE 1986) je rizosfera 'volumen tal v neposredni bližini korenin, ki je pretežno pod vplivom rastline (glede sprejema vode in hranil, eksudatov, dihanja itd.)'. Rizosfero lahko delimo na (slika 1):

- eksorizosfero (0 - 1500 μm), ki vključuje notranjo eksorizosfero (0 - 15 μm) in
- endorizosfero, ki sega po apoplastu od površine rizoderma do endoderma v korenini.



Slika 1: Delitev rizosfere in ravnih con korenine (prirejeno po CURL / TRUELOVE 1986)
 Figure 1: Schematic presentation of the rhizosphere and the root growth zones (modified after CURL / TRUELOVE 1986)

Rizosfera se razlikuje od okolnih tal (po CURL / TRUELOVE 1986; MARSCHNER 1991) po:

- nižjem pH (H^+ - K^+ črpalke, izločanje organskih kislin),
- višjem redoks potencialu in redukcijskih procesih,
- nižjem vodnem potencialu,
- nižjem parcialnem tlaku kisika in višjem parcialnem tlaku CO_2 ,
- višjih koncentracijah topnih ogljikohidratov (koreninskih eksudatov: rastnih regulatorjev, flavonoidov, organskih kislin, fitosideroforjev, kislih fosfatov), zato je v njej do treh redov velikosti večje število mikroorganizmov na gram tal in drugačna vrstna sestava teh organizmov.

Ker je večina absorpcijskih korenin v naravnih pogojih mikorizna, se pogosto termin rizosfera razširi na termin mikorizosfera, t.j. 'rizosfera mikorizne korenine' (CURL / TRUELOVE 1986). V tem delu gozdnih tal prihaja do multiplih simbioz med bakterijami, mikoriznimi glivami in gozdnim drevjem, npr. med mikoriznimi

koreninami iglavcev in listavcev, ki tvorijo simbiozo z bakterijami, fiksatorji dušika (simbioza *Alnus/Frankia* (ARNEBRANT *et al.* 1993), simbioza *Rhizobium/Robinia*, simbioza *Rhizobium-Bradirhizobium/Genistae* (WERNER 1992)) ter med kompleksom spremljevalnih bakterij, ki pomagajo pri vzpostavljanju simbioz in rasti rastlin ('bakterije pomočnice mikoriznim glivam' (mycorrhization helper bacteria, GARBAYE 1994) in 'bakterije pospeševalke rasti' (plant growth promoting bacteria, McINTYRE / PRESS 1991)).

Uspešnost mikoriznih gliv pri sprejemu vode in hranil je v veliki meri odvisna od anatomije in fiziologije micelija gliv zunaj vplivne cone korenin, t.j. ekstramatričnega micelija. Podobno kot vplivajo na svojo okolico nemikorizne korenine v rizosferi, vplivajo na svojo okolico hife v 'hifosferi' (MARSCHNER 1992), ki predstavlja mikorizosfero in vplivno območje hif ekstramatričnega micelija. Procesi na stičišču hif in tal so odvisni od oblike mikorize (endo-ekto mikoriza), vrstnih značilnosti mikoriznih gliv in posebnosti njihovih različnih izolatov ali sevov. Hifosfera predstavlja v gozdnih tleh večino organskega horizonta tal, ki je v naravnih gozdnih ekosistemih povsem preprežen z ekstramatričnim micelijem. Za primer naj navedemo, da se je posamezni individuum mikorizne glive *Suillus bovinus*, ki ne tvori posebno diferenciranih rizomorfov (povezkov hif), razprostil v 100-letnem gozdu na Švedskem do 20 m daleč (DAHLBERG 1992). V ZDA pa so z analizo DNA ugotovili, da se je en sam individuum glive *Armillaria mellea*, ki tvori visoko diferencirane rizomorfe, razrasel vsaj na površini 15 hektarjev, tehtal je vsaj 10.000 kg in obdržal isto genetsko strukturo več kot 1.500 let (torej je bila njegova starost vsaj tolikšna) (SMITH / BRUHN / ANDERSON).

3 POMEN IN RAZŠIRJENOST OBLIK MIKORIZE

Vsaka oblika mikorize je povezana z določenim ekosistemom in s talnim okoljem, ki se razlikuje glede hitrosti dekompozicije, mineralizacije, dostopnosti hranil in dinamike ekosistemov (Preglednica 2). READ (1991) dokazuje, da so se posamezne oblike mikorize razvijale vzporedno z razvojem ekosistemov. Specifični klimatski in edafski pogoji v okolju so vplivali na klimazonalno razporeditev tako rastlin kot oblik njihove mikorizne simbioze.

Erikoidna mikoriza je razvita predvsem na večjih nadmorskih višinah in geografskih širinah, v kislilih tleh, kjer je proces mineralizacije organskih snovi zavrt. Prihaja do kopičenja nerazkrojenih organskih ostankov in do kopičenja surovega humusa. Čas dekompozicije je daljši od petih let, pH tal je nizek, pod 3.5, C/N razmerje je veliko, okoli 120. Za mikorizne glive, ki soustvarjajo te ekosisteme, je značilna poudarjena sposobnost izkoriščanja organsko vezanega dušika in imobilizacije ionov toksičnih kovin (READ 1991).

Arbuskularna mikoriza (AM) prevladuje na manjših nadmorskih višinah in geografskih širinah, kjer je hitrost mineralizacije hitra, zato prihaja tudi do hitrega spiranja hranil. Tip humusa je sprstenina, C/N razmerje je majhno (20-30), pH tal je med 4.5 in 6.5. Čas dekompozicije je 1-2 leti. Višji pH vpliva na slabšo topnost fosforja, ki postane glavni omejitveni dejavnik rasti v teh sistemih. Glive, ki soustvarjajo AM, omogočajo boljše izkoriščanje dostopnega in sproščanje nedostopnih oblik fosforja (READ 1991).

Preglednica 2: Glavne interakcije v sistemu tla - mikorizosfera - višja rastlina v nekaterih kopenskih biomi (prirejeno po READ 1991)

Table 2: The major interactions in the system soil-mycorrhizosphere-higher plant in some terrestrial biomes (modified after READ 1991)

Oblika mikorize / Interakcija	Erikoidna mikoriza	Ektomikoriza	Arbuskularna mikoriza
Dostopnost hranil	revna z mineralnim N in P	N in P dostopna sezonsko	veliko N, nedostopen P
pH	pod 3 - 4	pod 4 - 7	5 - 9
C : N razmerje	120 - 100	110 - 20	30 - 10
opad	velike vsebnosti lignina, polifenolov, organskih kislin, organsko vezana N in P	različno stabilni kompleksi polifenolov in proteinov, organsko vezana N in P	malo nestabilnih kompleksov polifenolov in proteinov, malo organskih kislin
čas dekompozicije	5 let in več	2 - 5 let	1 - 2 leti
oblike rastlin in podrast	grmovnate vresnice	gozdno drevje z erikoidnimi ali arbuskularnimi rastlinami v podrast	zelnate rastline in tropsko drevje
humus	surovi humus	3 oblike humusa	sprstenina
micelij gliv	micelij slabo razrasel, tik pod površjem opada, ob viru hranil	široko razrasel micelij v opadu za sprejem hranil in plašč za shranjevanje	micelij razrasel v različnih globinah tal
encimi gliv	proteaze, lignaze, fenol-oksidge	polifenol-oksidge, proteaze, celulaze, fosfataze	alkalne fosfataze
prevladujoči klimatski pas	tundra	borealni in zmerni pas	tropske savane in pragozd

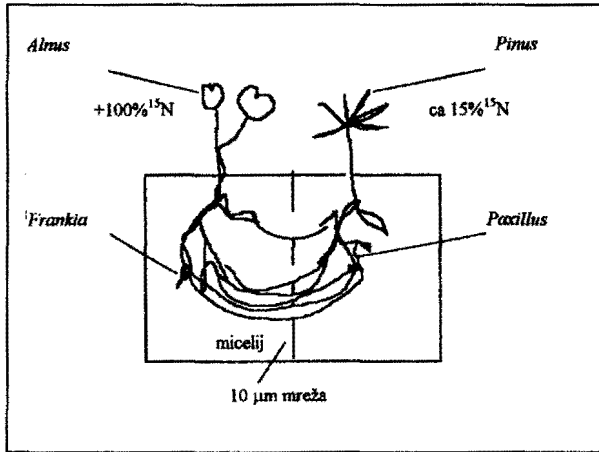
Ektomikorizne vrste prevladujejo v severnih gozdovih zmernega in borealnega pasu, za katere je značilno kopičenje organskega opada in razmeroma počasna mineralizacija. Prevladujoči obliki humusa sta prhlina in sprstenina, pH tal je med 4.0 in 5.7, čas dekompozicije je 2 - 5 let, C/N razmerje je med 30 in 110 (READ 1991). Ektomikorizne glive omogočajo hitrejše kroženje organsko vezanih elementov, predvsem dušika in fosforja, ter s posredovanjem teh elementov rastlinam preprečujejo izgubo hranil oziroma izpiranje le-teh izven sistema (DIGHTON 1991). V študiji pretoka biomase in hranil v gozdu duglazije sta DIGHTON in BODDYjeva (1988) prikazala razporeditev biomase in hranil ter čas pretoka ločeno za drevje (liste, les in korenine), gozdna tla in glive (mikorizo, trosnjake, hife) (preglednica 3).

Preglednica 3: Pretok biomase in hranil v gozdu duglazije (prirejeno po DIGHTON / BODDY 1989)
Table 3: Flux of biomass and nutrients in a Douglas fir stand (modified after DIGHTON / BODDY 1989)

Komponenta	Rastoča biomasa (kg/ha)	Čas pretoka (let)	Pretok N (kg/ha) / (%)	Pretok P (kg/ha) / (%)
listi	14.7	6	15.3 / 5	4 / 7
les	243.4	(3) 20 - 400	3 / 1	2 / 3.5
korenine	64.3	1.6	103 / 34	37 / 65
gozdna tla	19.0	6.3	38 / 12.5	2 / 3.5
mikoriza	12.8	1.5		
trosnjaki	65	1.0	}145.5 / 47.5	}12 / 21
hife	7.0	1.1		
sestoj skupno	361.4	-	305	57

Večina biomase je v lesu, vendar je čas dekompozicije lesa navadno daljši od 20 let, lahko celo do 400 let. Le drobne veje se razgradijo že v nekaj letih. Najhitreje se razgrajujejo korenine in glivna komponenta v gozdu, kar vpliva tudi na sproščanje dušika in fosforja. Skoraj 50% vsega razpoložljivega dušika v gozdu duglazije izvira iz procesa razgradnje mikorize, trosnjakov in hif.

Prenos hranil po miceliju gliv med osebki iste in različnih vrst drevja v gozdu prikazuje poskus z retranslokacijo markiranega dušika (slika 2, po ARNEBRANT s sod. 1993).



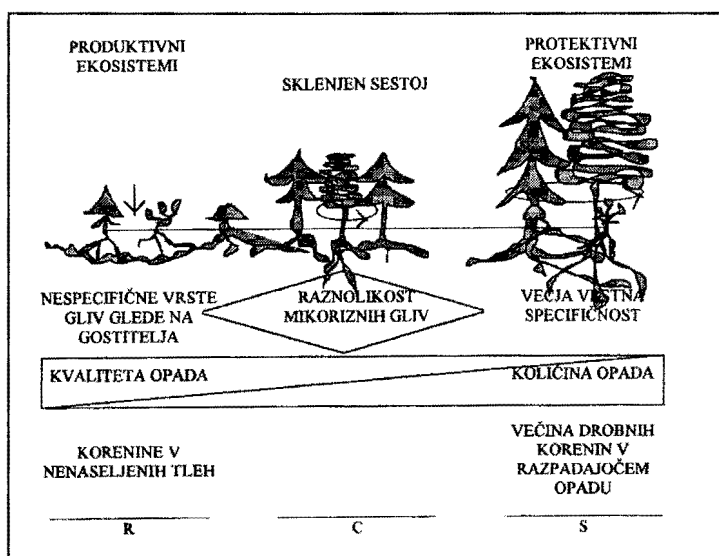
Slika 2: Shema poskusa retranslokacije markiranega ¹⁵N iz fiksatorja (*Frankia*), ki živi v simbiozi s koreninami jelše, preko hif skupne mikorizne glive (*Paxillus involutus*) v sadiko bora (*Pinus contorta*) (po ARNEBRANT et al. 1993)

Figure 2: Schematic presentation of an experiment showing retranslocation of radioactive isotope ¹⁵N from a nitrogen fixing actinomycete (*Frankia*) living in a symbiosis with roots of alder, across the mycelium of a common mycorrhizal fungus (*Paxillus involutus*) into a pine seedling (*Pinus contorta*) (after ARNEBRANT et al. 1993).

V zaprtem sistemu so gojili jelšo s simbiotskim fiksatorjem dušika, aktinomoceto (*Frankia*) v koreninskih gomoljčkih. Na koreninah jelše je bila hkrati razvita tudi ektomikoriza z glivo *Paxillus involutus* (Batsch) Fr. (navadna podvihanka). Sistem je bil pregrajen z nekaj mikronske mreže, skozi katero so lahko rastle le hife gliv, ne pa tudi korenine sadik drevja. Na drugi strani mreže je rasel bor z razvito ektomikorizo z isto glivo. V sistem so vbrizgali radioaktivno markiran dušik. Tega je lahko uporabila le jelša s simbiotskim fiksatorjem dušika. Vendar so na autoradiografskem posnetku celega sistema ugotovili prisotnost markiranega dušika tudi v iglicah bora. S tem so dokazali prenos dušika od fiksatorja v koreninskih gomoljčkih jelše skozi micelij skupne ektomikorizne glive do drugega partnerja te glive. Podoben poskus sta z radioaktivno markiranim ogljikom izvedla FRANCIS in READ (1984). Dokazala sta prenos asimilatov med rastlinami, povezanimi s skupnim micelijem mikoriznih gliv. SIMARD *et al.* (1996) pa je dokazala prenos hranil od osvetljenih na zasenčene osebke v lončnem poskusu.

Vrstna sestava, raznolikost in fiziologija mikoriznih gliv se razlikuje glede na sukcesijsko fazo gozdnih sestojev (LAST *et al.* 1987) (slika 3). V mladju sta kvaliteta opada in hitrost dekompozicije hitra, mikorizne glive so specializirane

za hiter sprejem hranil, ki bi se sicer izgubila iz ekosistema. Vrste mikoriznih gliv označuje pionirska ali ruderalna selekcija. Ob prehodu gozdnih sestojev v fazo letvenjaka prehaja sistem vse bolj pod vpliv biokomponente, prihaja do tekmovanja med osebki za hranila, ki vstopajo v notranje kroženje v teh ekosistemih. Vrstna raznolikost mikoriznih gliv je velika, mikorizne glive in njihove avtobionte označuje kompetitivna selekcija. V starejših fazah, v debeljakah, se kompetitivna selekcija prevesi v stresno selekcijo, ki bi jo lahko imenovali tudi 'selekcija sodelovanja' med gradniki teh ekosistemov. Večina hranil je ujetih v notranje kroženje znotraj ekosistema, mikorizne glive so specializirane za sprejem organsko vezanih oblik hranil iz opada in za tvorbo multiplih simbioz med posameznimi komponentami, dekompozitorji, fiksatorji dušika, gozdnim drevjem in vrstami podrasti ter med dominantnimi in subdominantnimi osebki gozdnega drevja. Količina opada je vse večja, kvaliteta manjša, čas za dekompozicijo se daljša. Mikorizne glive, mikorizosfera oziroma hifosfera predstavljajo enega glavnih pogojev stabilnosti v dinamičnem ravnovesju teh ekosistemov.



Slika 3: Shema sukcesije v gozdu glede razvoja krošenj, sprememb v pritalni vegetaciji, raznolikosti mikoriznih gliv, količine in kvalitete opada in pogojev selekcije (R - ruderalna, C - kompetitivna, S - stresna selekcija) (LAST et al. 1987)

Figure 3: Schematic presentation of a forest succession regarding the development of crowns, changes in ground-floor vegetation, biodiversity of mycorrhizal fungi, quality and quantity of litter and the conditions of selection (R - ruderal, C - competitive, S - stress selection) (LAST et al. 1987)

4 MEHANIZMI DELOVANJA MIKORIZE

Mikoriza omogoča rastlini (makrosimbiontu) boljšo rast in uspevanje v naravnih in umetnih sistemih z mehanizmi, ki jih lahko opredelimo na morfološkem, fiziološkem in ekološkem nivoju.

Morfološki nivo obsega:

- tip razraščanja in razporeditve korenin v tleh - arhitektura mikoriznega koreninskega sistema se razlikuje od koreninskega sistema rastlin, vzgojenih v sterilnih, nemikoriznih pogojih; funkcijo sprejema vode in hranil prevzame micelij mikoriznih gliv, zato lahko 'absorbcijski tip korenin' zamenja 'iskalni tip korenin', torej dolge korenine s hitro rastjo, ki 'iščejo' nove, še nenaseljene dele tal oziroma vire vode in hranil (HETRICK 1991);
- dostopnost večjega volumna tal, večja površina in dolžina absorbcijskih organov - micelij se, predvsem v gozdnih tleh, razrašča na velikih površinah in razdaljah, raste hitreje kot korenine in lahko izkorišča večje volumne tal kot same korenine (FITTER 1991);
- večja hitrost sprejema hranil na enoto površine - zaradi ustrežnejšega razmerja med površino in volumnom hif v primerjavi s koreninami je hitrost sprejema hranil na enoto površine skozi micelij večja (NYE / TINKER 1977);
- dostopnost manjših kompartmentov v tleh - v večini primerov je premer hif reda velikosti 1-10 μm , koreninskih laskov 20-40 μm , premer korenin pa čez 100 μm (Slika 5a);
- zmanjšana transportna pot med korenino in tlemi - transport do korenine prevzame micelij gliv;
- micelij gliv vpliva na spremembe v strukturi tal (CURL / TRUELOVE 1986);
- plašč lahko deluje kot mehanska zapreka pred vdorom patogenih organizmov in toksičnih elementov v tleh (GARBAYE 1994).

Na fiziološkem nivoju je micelij mikoriznih gliv (PANKOW *et al.* 1991):

- sposoben sprejema manj dostopnih organskih hranil v tleh;
- sposoben sprejema organsko vezanih oblik hranil (N, P);
- shranjevanja fosfatov in drugih hranil v glivnem plašču oziroma v veziklih arbuskularnih gliv;
- vezanja ali selektivnega sprejema toksičnih ionov težkih kovin;
- tolerantnosti ali imobilizacije delovanja patogenih organizmov v plašču;
- izločanja antibiotikov v mikorizosfero;

- sposoben vplivati na spremembe pH v mikorizosferi;
- sposoben izločanja sideroforjev, ki omogočajo sprejem nekaterih mikrohranil v tleh.

Na ekološkem nivoju je pomen micelija mikoriznih gliv v (FRANCIS / READ 1984, DIGHTON 1991, ARNEBRANT *et al.* 1993, AMARANTHUS / PERRY 1994, SIMARD *et al.* 1996 idr.):

- inter- in intraspecifičnih povezavah v ekosistemu - prek micelija mikoriznih gliv je možen prenos hranil med osebkami iste in različnih vrst v ekosistemu;
- v časovni in prostorski redistribuciji hranil v ekosistemu;
- v vplivih na spremenjeno sestavo mikroorganizmov v mikorizosferi - raznolikosti biološke komponente v gozdnih tleh in celem ekosistemu.

5 UČINKOVITOST SOŽITJA IN TIPI EKTOMIKORIZE

Učinkovitost sožitja posameznih vrst in sevov gliv v mikorizni simbiozi se lahko razlikuje glede na fiziološke lastnosti glive, populacije rastline ter kombinacijo vrst obeh simbiotov (GIANINAZZI-PEARSON 1984, ALLEN 1991). Od vrste mikorizne glive, njenih morfoloških, fizioloških in ekoloških značilnosti je odvisna odpornost oziroma prilagojenost posameznih tipov ektomikorize na različne pogoje v okolju ter hkrati na učinkovitost sožitja. Kot merilo učinkovitosti se navadno navaja rast mikoriznih sadik v primerjavi z nemikoriznimi oziroma primerjave rasti (MARX 1969, GABROVŠEK / GOGALA 1990), nekaterih fizioloških in biokemijskih parametrov pri sadikah, umetno koloniziranih z različnimi vrstami in izolati mikoriznih gliv (npr. ALLEN *et al.* 1980, DIXON *et al.* 1988, COLEMAN *et al.* 1990, WULLSCHLEGER / REID 1990, KRAIGHER *et al.* 1991 & 1993, GOGALA *et al.* 1991 idr.). Zato je nujno, da vemo, kateri tipi mikorize se pojavljajo v simbiozi s posameznimi drevesnimi vrstami oziroma njihovo kombinacijo v naravi na različnih gozdnih rastiščih in v razvojnih fazah gozda, na različno obremenjenih tleh in v posameznih drevesnicah. Nedopustno je prenašanje tujih izsledkov oziroma vnašanje tujih izolatov gliv v naše ekosisteme!

5.1 Anatomska metoda določanja tipov ektomikorize

Posamezni poskusi klasifikacije ektomikorize so znani od leta 1927 dalje, ko je MELIN razporejal ektomikorize po obliki (*habitusu*) (cit. v ZAK 1971). DOMINIK (cit. v ZAK 1971) je razporedil 12 podtipov ektomikorize v 8 rodov (*ibid.*) glede na anatomske značilnosti, npr. obliko plašča. Vendar se nobena od teh klasifikacij ni obdržala, ker so preveč splošne, ne identificirajo glivnega, niti rastlinskega partnerja, niti mikorize.

Za identifikacijo mikorizne glive s posameznim partnerjem so predpisane naslednje metode (ZAK 1971):

- umetna inokulacija sadik *in vitro*,
- izolacija glive iz mikorize,
- zasledovanje rizomorfov in hif v tleh,
- neposredna povezava sporokarpa z mikorizo pod njim.

Naštete metode so zamudne, umetne inokulacije so pogosto neuspešne, morfologija je lahko odvisna od uporabljenih substratov oziroma neustrezna, lahko pa tudi v naravi simbiotske glive v umetnih pogojih spremenijo značaj v saprofitskega in obratno. Zato večina starejših navedb mikoriznih gliv izhaja iz sklepanja o mikoriznosti le-teh in ne iz eksperimenta, npr. klasični članek TRAPPEja (1962), zbirni članek o mikorizi na Britanskem otočju (HARLEY / HARLEY 1987), raziskave mikoriznih gliv petigličastih borov na Balkanu (TORTIĆ 1987) itd. V zadnjih petih letih se z uporabo molekularnih metod identifikacije mikoriznih gliv kažejo nova razmerja in kombinacije mikoriznih gliv v posameznih ekosistemih (GARDES *et al.* 1991, BRUNS *et al.* 1991).

Poenoteni ključ za identifikacijo ektomikorize, ki izhaja iz naštetih dokazov mikoriznosti, izhaja od leta 1987 dalje (AGERER 1987-1995). V letu 1996 sta na razpolago dopolnili tega ključa, 'Descriptions of ectomycorrhizae' (AGERER *et al.* 1996) in ključ za določanje ektomikorize na CD računalniškem mediju DEEMY (AGERER / RAMBOLD 1996). V teh publikacijah je zbrano znanje, objavljeno v seriji taksonomskih člankov in disertacij, v Ključu za določevanje ektomikorize iz Velike Britanije (INGLEBY *et al.* 1990), iz okolice Tübingena (HAUG / PRITSCH 1992) ter iz Severne Amerike (GOODMAN *et al.* 1996). Tri zbirne publikacije se sproti vsako leto dopolnjujejo z novimi opisi tipov ektomikorize.

Pri karakterizaciji in identifikaciji ektomikorize se upoštevajo naslednje morfološke in anatomske značilnosti (AGERER 1991) - glej prilogi 1 in 2:

- A) Morfološke značilnosti: tip razraščanja mikorize, makroskopske izmere mikorizne osi in izrastkov, značilnosti površine plašča, barva, prisotnost trdno prilepljenih talnih delcev (slika 4a), prisotnost rizomorfov (slika 4b), značilnosti izhajajočih hif, prisotnost posebnih tipov hif (cistidijev, laticifer). Opazovanja potekajo pod binokularjem pri dnevni kvaliteti svetlobe (z uporabo ustreznega filtra).
- B) Kemijski in fluorescenčni testi: kemijski testi se izvajajo na svežem materialu pri standardizirani kvaliteti svetlobe in povečavi; uporabljajo se vse kemikalije, ki se navadno uporabljajo pri determinaciji višjih gliv (KOH, mlečna kislina, FeSO_4 , Meltzerjev reagent, sulfovanilin, etanol itd.). Te kemikalije lahko spremenijo topnost pigmentov in kristalov, lahko pa spremenijo tudi barvo mikorize. Autofluorescenca se določa pri celi mikorizi in pri mikroskopskih preparatih pri določenih valovnih dolžinah UV svetlobe; za izmere jeder in siderofilnih zrn se le-ti barvajo po predpisanih postopkih.
- C) Anatomske značilnosti plašča in izhajajočih elementov: mikroskopski preparati plašča se označujejo kot plektenhimatski (posamezne hife so še razpoznavne), psevdoparenhimatski (hife ležijo tesno skupaj in spominjajo na parenhim) ter vmesne (priloga 2e) in posebne oblike obeh tipov plašča (epidermoidno, pravokotno oblikovana površina itd.). Pomembne so posebne oblike hif (napihnjene hife (priloge 4b in c, 5b in c), mlečni vodi ali laticifere (slika 5e), znotrajhifalne hife itd.), prisotnost raznih zrn na hifah (slika 5b), posebno oblikovana septa (enostavna, septa s centralno sodčasto odebelitvijo (prilogi 4c in 5b), prisotnost Woroninovega telesca ob septi). Med izhajajočimi elementi, hifami, cistidiji in rizomorfi, omenim zlasti slednje. Rizomorfi (*sensu* AGERER 1991) so različno diferencirani skupki hif, ki so lahko bolj ali manj enako oblikovane (slika 5b), ali pa so osrednje hife v povezkih debelejšje, imajo lahko celo reducirana septa, tako da je translokacija snovi v njih neovirana (slika 5d). Pomembni taksonomski znaki so prisotnost zaponk in oblika anastomoz.
- D) Anatomske značilnosti na prečnem in vzdolžnem rezu (slike 5f, g, h): pri teh se opazuje plastovitost plašča. Merijo se hife, celice primarne skorje in taninske celice ter razmerja med dolžino in širino teh celic. Ugotavlja se število plasti celic skorje v Hartigovi mreži itd. Koreninski vršiček se obravnava ločeno.

- E) Imenovanje mikorize: opisana mikoriza, pri kateri je bilo mogoče ugotoviti glivnega partnerja, se imenuje po obeh partnerjih v simbiozi (npr. *Hydnum rufescens* x *Picea abies*, sliki 5b in c). Tip ektomikorize, ki se po svojih značilnostih nedvoumno loči od preostalih tipov ektomikorize, vendar vrsta glive ni znana, dobi umetno ime, sestavljeno iz imena rodu rastline z dodatkom *-rhiza*, ter neke značilnosti tipa (npr. *Piceirhiza inflata*, sliki 4c in d).
- F) Referenčne zbirke: vzorec ektomikorize, po katerem je bila izpeljana karakterizacija, dobi zaporedno številko referenčne zbirke tipov ektomikorize v Taksonomski zbirki GIS (del Herbarija Ljubljana) z oznako SLO (številka), kopija izbranih primerkov se pošlje v mednarodno zbirko tipov ektomikorize v Herbarij Inštituta za sistematsko botaniko Univerze v Münchnu (ICEM).

5.2 Molekularne metode določanja tipov ektomikorize

Anatomske metode določanja tipov ektomikorize so zelo zamudne. Pri posameznih drevesnih vrstah je bilo doslej opisano omejeno število tipov, pri smreki npr. okoli 85, potencialno pa je lahko ektomikoriznih več sto vrst gliv (AGERER 1993), tako da je v vsakem vzorcu gozdnih tal lahko prisotno nekaj doslej še neopisanih tipov ektomikorize. Poleg tega je pri nekaterih tipih ektomikorize po anatomskih značilnostih nemogoče ugotoviti vrsto glive, mogoča je le določitev rodu ali širše skupine gliv s podobnimi anatomskimi značilnostmi - ektomikoriza je vegetativni organ, taksonomija višjih gliv pa sloni predvsem na anatomiji generativnih organov, predvsem trosnjakov, trosišč in trosov (spor). Zato se v zadnjih letih vse bolj razvijajo molekularne metode določevanja tipov ektomikorize. Razvoj je šel prek izoencimske elektroforeze (SEN 1992) in imunoloških metod (CLEYET-MAREL / BOUSQUET / MOUSAIN 1988) v razvoj genskih markerjev za analizo DNK (RYGIEWICZ / ARMSTRONG 1991). Molekularne metode identifikacije ektomikorize so zasnovane na uporabi encima DNK *Taq* polimeraze, s katerim se v primerni mešanici denaturirane DNK, nukleotidov, začetnih oligonukleotidov ('primerjev') in pufrske raztopine po posebnem termičnem postopku lahko močno pomnožijo (amplificirajo) kratki segmenti glivne DNA (RYGIEWICZ / ARMSTRONG 1991). Reakcija se imenuje polimerazna verižna reakcija (PCR). Uporablja se lahko za naključno pomnožitev segmentov DNK (RAPD) ali za pomnožitev vrstno značilnih segmentov DNK, kar je odvisno od izbire vrstno specifičnih začetnih oligonukleotidov (BRUNS *et al.* 1991, CULLINGS 1992). Posamezne

pomnožene produkte te reakcije je mogoče analizirati z uporabo restriksijskih encimov (analiza polimorfizma dolžine restriksijskih fragmentov - RFLP) ali s hibridizacijo fragmentov DNK (BRUNS / GARDES 1993).

Pri najbolj razširjeni molekularni metodi, ki jo uporabljamo za študij pestrosti mikorize v biokomponenti gozdnih tal tudi v Sloveniji (KRAIGHER *et al* 1995 c), poteka postopek po naslednji metodologiji (KRAIGHER *et al* 1995 a, prirejeno po GARDES / BRUNS 1993):

- Ekstrakcija DNK iz posameznih mikoriznih vršičkov ali iz himenija glive.
- Pomnožitev DNK z metodo polimerazne verižne reakcije (PCR). Uporabili smo metodo prednostno pomnožene ITS-regije ribosomalnih genov (ITS = notranji transkripcijski presledek). Pri tem se DNK v velikem številu ponovitev (35 ciklov) denaturira, na razcepljene verige se prilepijo izbrani začetni oligonukleotidi, potem pa se ti kompletni fragmenti DNK z encimom DNK polimerazo pomnožijo oziroma podaljšajo do primerne velikosti.
- Encimsko cepljenje produkta amplifikacije na fragmente (kombinirana metoda se imenuje PCR-RFLP). Z izbranimi encimi je mogoče dobiti za posamezno vrsto glive tipične dolžine fragmentov produkta amplifikacije.
- Elektroforeza produktov amplifikacije in njihovih fragmentov.
- Analiza fotografij elektroforetogramov z računalnikom.

Molekularne metode identifikacije tipov ektomikorize v resnici niso tako komplicirane, kot bi lahko sklepali iz gornjih navedb in postopka. Metode so hitre, saj se lahko hkrati analizira večje število vzorcev. Z njimi je mogoče nedvoumno identificirati glivnega partnerja na posamezni raziskovalni ploskvi in možna je interpretacija rezultatov za filogenetske študije. V kombinaciji s klasično anatomsko metodo (AGERER 1991) predstavljajo molekularne metode hiter in zanesljiv pripomoček pri študiju taksonomskih in ekoloških značilnosti mikorize.

V Sloveniji smo ugotovili, da so doslej testirane metode uporabne za večje število vrst mikoriznih gliv, za nekatere pa je potrebno metode še dopolnjevati (KRAIGHER 1994a in b, KRAIGHER *et al.* 1995a, AGERER / KRAIGHER / JAVORNIK 1996). Pri tipih ektomikorize, pri katerih glivni partner ne kaže populacijske variabilnosti, je metoda uporabna za večji areal razširjenosti teh vrst (npr. *Tylospora* spp., ERLAND *et al.* 1994), pri drugih tipih, npr. *Hydnum rufescens* Fr. x *Picea abies* (L.) Karst., pa je mogoče PCR-RFLP metodo vezati

le na posamezno raziskovalno ploskev, ker je pri tem in pri sorodnem tipu *H. repandum* L. x *Picea abies* (L.) Karst., prisotna intra- in interspecifična variabilnost, zato sama molekularna metoda ne zadošča za nedvoumno identifikacijo tipa (AGERER / KRAIGHER / JAVORNIK 1996).

6 APLIKACIJE V GOZDARSTVU

6.1 Raziskave gozdnih ekosistemov in mikobioindikacija obremenjenosti rastišč

Mikoriza predstavlja osnovni povezovalni element v gozdnih ekosistemih, je pomemben dejavnik stabilnosti gozda in hkrati predstavlja enega večjih soustvarjalcev biološke pestrosti v biokomponenti gozdnih tal. Saprofitske sposobnosti ektomikoriznih gliv in kompleksne raziskave sestave in delovanja mikroorganizmov v mikorizosferi so trenutno v vrhu zanimanja znanstvenikov s področja mikorize in ekologije gozdnih tal in rizosfere (ICOM 1996).

Razumevanje ekologije združb ektomikoriznih gliv je bilo doslej omejeno z zahtevnostjo in dolgoročnostjo tovrstnih raziskav ter z raziskavami pojavljanja trosnjakov ektomikoriznih gliv. O'DELL in AMMIRATI (1996) npr. ugotavljata na podlagi ekstrapolacij skupne raznolikosti iz raznolikosti posameznih vzorcev (z uporabo Shannonovega indeksa biološke raznolikosti in Chaove ocene skupne raznovrstnosti, ki temelji na deležu redkih taksonov), da sta v svoji desetletni študiji doslej verjetno ugotovila komaj polovico vseh vrst gliv, ki nastopajo na njihovih raziskovalnih ploskvah v mešanem gozdu duglazije in čuge. Večje število raziskovalcev ugotavlja, da pojavljanja trosnjakov ni mogoče enačiti s pojavljanjem tipov ektomikorize v tleh, saj se lahko npr. posamezni tip pojavlja v relativno velikem deležu v vzorcih tal, pa hkrati ne tvori ali pa le redkokdaj zraste iz njega reproduktivni organ, trosnjak ali goba (GARDES / BRUNS 1996, MEHMANN *et al.* 1995, DURALL *et al.* 1996, EBERHART *et al.* 1996). Podobne rezultate smo dobili tudi v Sloveniji (KRAIGHER 1994a, KRAIGHER *et al.* 1995a, c in 1996).

Prav zaradi večje zanesljivosti pri raziskavah biološke pestrosti v gozdnih tleh ter zaradi boljšega razumevanja ekologije mikoriznih gliv se vse več raziskovalcev preusmerja v raziskave tipov ektomikorize (v primerjavi s kartiranjem makromicet na podlagi pojavljanja trosnjakov) ter v uporabo

molekularnih metod določanja tipov ektomikorize. V Sloveniji smo te metode že uporabili pri študiju pestrosti biokomponente gozdnih tal in rizosfere na dveh različno onesnaženih raziskovalnih ploskvah Gozdarskega inštituta Slovenije, v Zavodnjah in v Mislinji (KRAIGHER 1994 a in b, KRAIGHER *et al.* 1995 a in c, 1996; AGERER / KRAIGHER / JAVORNIK 1996). Iz primerjave med popisi tipov ektomikorize in popisi trosnjakov gliv smo ugotovili, da ni mogoče neposredno primerjati številčnosti posameznih vrst gliv v obeh razvojnih oblikah. Trosnjaki gliv so se pojavljali predvsem v jesenskem obdobju, medtem ko so tipi ektomikorize prisotni na gozdnih rastiščih skozi vse leto. Trosnjaki posameznih vrst gliv, npr. *Hydnum rufescens*, so bili prisotni na ploskvi v Mislinji le posamič, medtem ko je med tipi ektomikorize ta tip prevladoval. Pri nekaterih tipih ektomikorize, ki so se pojavljali značilno le na onesnaženi ali le na neonesnaženi ploskvi, pa glivni partner še ni bil identificiran.

Glede na rezultate naših raziskav smo sklepali in predlagali naslednje:

- 1) Onesnaževanje lahko vpliva na distribucijo mikoriznih gliv, med katerimi lahko nekatere izginejo, medtem ko druge lahko izkoristijo novo nastali manj kompetitivni stadij v zaradi onesnaženja osiromašenem gozdnem ekosistemu.
- 2) Mikobioindikacijo z analizo mikocenoz je mogoče uporabiti pri ugotavljanju onesnaženosti gozdnih rastišč (kot sta predlagala FELLNER 1989 in ARNOLDS 1988 in 1991).
- 3) V Sloveniji smo predlagali metodo mikobioindikacije z analizo prisotnosti občutljivih v primerjavi z na onesnaženje neobčutljivimi vrstami gliv, to je z raziskavo prisotnosti in abundance predstavnikov vsake od teh skupin; v naših raziskovalnih pogojih je bila nakazana kot občutljiva vrsta *Hydnum rufescens* Fr., kot neobčutljiva pa *Paxillus involutus* Fr..
- 4) Iz primerjave med pojavljanjem trosnjakov in tipi ektomikorize smo sklepali, da je slednje primernejše za ugotavljanje prisotnosti določene vrste gliv na gozdnem rastišču iz naslednjih vzrokov: i) ektomikoriza je v gozdnih tleh prisotna skozi vse leto in v različnih vegetacijskih sezonah, medtem ko je pojavljanje trosnjakov omejeno na določeno obdobje v letu, odvisno pa je od klimatskih dejavnikov v celem letu; ii) veliko število ektomikoriznih gliv ne tvori trosnjakov (Deuteromycotina), ali se uvršča med skorjaste glive, katerih trosnjake je težko opaziti, ali sodi med podzemne glive, katerih trosnjaki so skriti pod zemljo; iii) v nekaj primerih smo na naših ploskvah zabeležili povezanost določenih tipov ektomikorize bodisi z onesnaženo ali le z

neonesnaženo ploskvijo, vendar pri teh tipih glivni partner še ni bil identificiran; kljub temu bi te tipe lahko uvrstili med razlikovalno občutljive na onesnaženje. Pri tovrstnih raziskavah bi si lahko v veliki meri pomagali z uporabo molekularnih metod analiz ITS regije ribosomalnih genov. Metoda se je izkazala kot natančna, objektivna in hitra. Predlagali smo, da se značilni vzorci pomnožene DNA uvrstijo v ključ za določanje tipov ektomikorize kot eden od določevalnih znakov za identifikacijo glivnega partnerja do nivoja vrste. Ta predlog je bil upoštevan tudi pri pripravi novega ključa za določanje tipov ektomikorize na CD računalniškem mediju DEEMY (AGERER / RAMBOLD 1996).

6.2 Umetna obnova in pogozdovanje

Mikorizne sadike, kolonizirane z rastišču prilagojenimi vrstami in sevi gliv, imajo prednost pred nemikoriznimi v sposobnosti vzpostavitve hitrejšega in uspešnejšega stika z vodo in hranili v tleh ter z drugimi organizmi v biokomponenti tal. Micelij mikoriznih gliv, prilagojen na določeno rastišče, je sposoben hitre rasti in hitre vzpostavitve svoje absorpcijske funkcije. Zato lahko preostali del koreninskega sistema mikoriznih sadik hitreje zastavi rast dolgih korenin, ki so potrebne za sidranje sadik v tleh in za iskanje novih substratov in predvsem novih virov vode (HETRICK 1991).

Večina raziskav umetne kolonizacije sadik gozdnega drevja je bila doslej usmerjena v pogozdovanja degradiranih rastišč in rudniških jalovin. Klasični primeri so znani iz Severne Amerike, kjer je MARX že od konca šestdesetih let dalje (MARX 1969, MARX / BRYAN 1970 & 1975) raziskoval in kasneje komercialno prodajal pripravke za umetno kolonizacijo sadik nekaterih borov in duglazije z različnimi sevi glive *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Desv., preizkušenimi na različnih rudniških jalovinah. Bori, kolonizirani z jalovini primernim sevom te glive, so že v kratkem času, vendar tudi še po dvajsetih letih rasti kazali neovirano rast, medtem ko so nemikorizni bori večinoma propadli oziroma so očitno zaostali v rasti. Podobno se je izkazalo za sadike, naravno kolonizirane z glivo *Thelephora terrestris* Ehrenb. iz nekaterih drevesnic v ZDA, ki so na rudniških jalovinah tudi očitno zaostale v rasti.

Marx je zaradi omenjenih uspehov v Severni Ameriki začel svoje pripravke z različnimi izolati glive *P. tinctorius* prodajati tudi na druge celine, v Evropo, Južno Ameriko, Avstralijo in Novo Zelandijo. Pri vsakem prenosu genetskega materiala prek meja kontinentov pa obstaja nevarnost genetske polucije, posebno, ker je večina sevov te glive izredno agresivnih in lahko povsem izpodrinejo naravno prisotno mikofloro. V Evropi so bili prenosi te glive omejeni predvsem na območje Francije, kjer sicer potekajo večji eksperimenti in komercialna pogozdovanja z različnimi sevi gliv *Laccaria bicolor*, *Laccaria laccata* in *Hebeloma crustuliniforme* (LE TACON 1996). V onesnaženih gozdovih v Nemčiji in na zahodu Poljske pa uporabljajo pri pogozdovanjih s smreko in z bukvi predvsem različne seve glive *Paxillus involutus* (npr. TURNAU *et al.* 1992).

Pred komercialno uporabo posameznih sevov mikoriznih gliv je potrebno le-te najprej preizkusiti na različnih substratih *in vitro*, v dvojnih kulturah s sadikami gozdnega drevja v laboratorijskih pogojih, šele nato navadno prenesejo poskuse na izbrana rastišča. Pri tem se je pokazalo, da so različni sevi sicer primernih mikoriznih gliv, v naravnih pogojih manj konkurenčni. Avtohtoni sevi lahko v kratkem času prevladajo tudi na umetno koloniziranih sadikah, kar je ponovno mogoče zasledovati samo z uporabo sodobnih molekularnih tehnik (GARDES *et al.* 1991). V vsakem primeru pa je rast koreninskega sistema sadik, ki so bile že v drevesnici kolonizirane z mikoriznimi glivami, po presaditvi na teren sposobna hitrejšega prilagajanja na nove pogoje - sistem kratkih mikoriznih korenin omogoča hitro kolonizacijo le-teh z avtohtonimi sevi, glavna energija se porabi za rast dolgih sidrskih in iskalnih korenin (FITTER 1991, HARTNETT 1996). Program selekcije sevov ustreznih mikoriznih gliv zato poteka v dveh smereh, v selekcijo hipervirulentnih sevov na izbranih naravnih rastiščih (npr. pri umetni obnovi gozda) in v selekcijo sevov, ki so sposobni uspevati in pripomoči k rasti sadik gozdnega drevja na ekstremno degradiranih ali onesnaženih tleh, npr. na rudniških jalovinah, deponijah in v okolici večjih stalnih polutantov. Postopno je opaziti tudi prehod k raziskavam kombinacij različnih sevov mikoriznih gliv in spremljevalnih bakterij ter fiksatorjev dušika (npr. GARBAYE 1994), kar je hkrati pogojeno tudi z raziskavami ustreznih vrstnih kombinacij sadik lesnatih rastlin pri pogozdovanju ali pri umetni obnovi gozda ('community studies', študije združb pri pogozdovanju; WERNER 1992). Pri sonaravnem gojenju gozdov ima lahko sadnja različnih, rastišču in medsebojnim odnosom v mikorizosferi prilagojenih kombinacij mikoriznih sadik, prednost predvsem zaradi sukcesijske fazi

prilagojene kombinacije vrst mikoriznih gliv, prisotnosti ustreznih bakterij, od katerih lahko nekatere pripomorejo k fiksaciji elementarnega dušika iz zraka, sama arhitektura koreninskega sistema pa je prilagojena na aktivno absorpcijsko funkcijo micelija mikrosimbionta ter iskalno funkcijo dolgih korenin makrosimbionta.

6.3 Gojenje užitnih mikoriznih gob

Posebno poglavje zajema gojenje užitnih mikoriznih gliv za prehrano. Med užitnimi mikoriznimi glivami v svetu so najbolj znane gliva 'matsutaki' (*Tricholoma matsutake*) (PILZ / MOLINA 1994), podzemne gomoljike, katere gojijo predvsem v mediteranskih klimatih v Italiji in Franciji (CHEVALIER / FROCHOT 1988), plantaže pa so znane tudi iz Nove Zelandije, Amerike, začenjajo jih uvajati v Avstraliji (ICOM 1996) in nekatere nam bolj domače vrste ektomikoriznih gliv, npr. jurčki in lisičke.

V severozahodnem delu Severne Amerike od leta 1993 dalje teče strokovno-raziskovalni Program usmerjanja gospodarjenja z gozdovi za ohranjanje pestrosti gliv in vzdrževanje naravne proizvodnje gob (PILZ / MOLINA 1996). V severozahodnih državah predstavlja nabiranje gob pomemben vir dohodka za gozdne delavce in kmete. V letu 1992 se je s to dejavnostjo ukvarjalo približno 11.000 ljudi, ki so za bruto dohodek držav Oregon, Washington in Idaho zaslužili ca 41 milijonov dolarjev (*ibid.*). Najbolj zanimive gobe so 'matsutaki' (v Severni Ameriki raste *Tricholoma magnivelare*), mavrahi (*Morchella* spp., mikorizni značaj le-teh še ni dokazan za vse vrste), lisičke (*Cantharellus cibarius* Fr.), jurčki (predvsem *Boletus edulis*), gomoljike (*Leucangium (Picoa) carthusiana*, *Tuber gibbosum*), v manjši meri tudi ježki (*Hydnum repandum*, *H. umbilicatum*). Program zajema kompleksne študije gozdnih ekosistemov, socialne, ekonomske in študije antropogenih vplivov na rast teh gliv, programe kartiranja, vzorčenja, varovanja, študij biologije in ekologije mikoriznega micelija, njihovega razmnoževanja in genetike in predvsem programe usmerjenega gospodarjenja z gozdovi, v katerih te glive uspevajo, zaradi njihovega varstva in vzpodbujanja fruktifikacije (proizvodnje trosnjakov) (*ibid.*).

7 POVZETEK

Miceliji mikoriznih gliv so osnovni povezovalni element v gozdnih ekosistemih, prek njih poteka časovni in prostorski prenos ali shranjevanje hranil v biokomponenti gozdnih tal. Kot pomemben dejavnik biološke in biotske pestrosti predstavlja enega ključnih elementov stabilnosti v gozdnih ekosistemih.

Različne vrste mikoriznih gliv v simbiotskem organu, ektomikorizi, oblikujejo s korenino makrosimbionta različne tipe ektomikorize. Le-te se med seboj razlikujejo po strukturi in funkciji, razlike je mogoče opredeliti na morfološkem, fiziološkem in ekološkem nivoju. Učinkovitost sožitja različnih vrst mikrosimbionta s koreninami rastlin je vrstno specifična, lahko je odvisna od lastnosti posameznih sevov iste vrste gliv. Zato so raziskave v svetu usmerjene v fiziologijo in ekologijo micelija različnih vrst in sevov gliv v mikorizni simbiozi. Ker se pojavljanje trosnjakov ne more enačiti s pojavljanjem tipov ektomikorize, torej se iz pojavljanja trosnjakov tudi ne more sklepati o vlogi micelija v gozdnih tleh, je poudarek v svetu in pri nas na študiju pojavljanja tipov ektomikorize na različnih rastiščih, sestojnih tipih in sukcesijskih fazah gozda. Prenašanje tujih izsledkov ali celo netestiranih izolatov gliv v naše ekosisteme ni možno oziroma dopustno.

SUMMARY

The mycelium of mycorrhizal fungi is the main linkage in forest ecosystems, representing temporal and spatial transport or storage of nutrients in the biological component of forest soils. As an important factor of biodiversity it represents a key element of stability in forest ecosystems.

Different species of mycorrhizal fungi in the symbiotic organ, the ectomycorrhiza, form different types of ectomycorrhizae with the root of a macrosymbiont. These differ in structure and function. The differences can be defined at a morphological, physiological and ecological level. The functional compatibility of different species of the microsymbiont with plant roots is specific to a species and can show differences among isolates of the same fungal species. Therefore most studies in this field deal with physiology and ecology of the mycelium of different species and isolates/strains of mycorrhizal fungi. As

the occurrence of fruitbodies does not necessarily reflect the occurrence of ectomycorrhizal types, which suggests that the mapping of fruitbodies does not reflect the role of the fungal mycelium in forest soils, the main emphasis both internationally and in Slovenia is on the investigation of the occurrence of ectomycorrhizal types in different forest sites, forest stands and successional stages of the forest. Any direct transfer of foreign findings or even untested isolates of fungi into our ecosystems is neither possible or admissible.

ZAHVALA

Recenzentu prof. dr. Francu Batiču, kolegoma mag. Igorju Smoleju in mag. Alenki Munda ter lektorjem se zahvaljujem za skrbno branje in nasvete ob dodelavi besedila. Delo sta financirala Ministrstvo za znanost in tehnologijo in Ministrstvo za kmetijstvo in gozdarstvo Republike Slovenije v okviru pogodb številka L4-7402-0404-96 in V9-6912-95 z aneksi.

H. Kraigher

VIRI

- AGERER, R., 1987-1995. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. - Einhorn Verlag, München.
- AGERER, R., 1991. Characterization of ectomycorrhiza. - In: Techniques for the study of mycorrhiza (Eds: NORRIS, J.R. / READ, D.J. / VARMA, A.K.). Methods in microbiology 23 Academic Press, London, s.25-73.
- AGERER, R., 1993. II a. Mycorrhizae: Ectomycorrhiza and Ectendomycorrhiza. - Progress in Botany, 54, s.505 - 529.
- AGERER, R. / KRAIGHER, H. / JAVORNIK, B., 1996. Identification of ectomycorrhizae of *Hydnum rufescens* on Norway spruce and the variability of the ITS region of *H. rufescens* and *H. repandum* (Basidiomycetes). - Nova Hedwigia 63, s. 183 - 194.
- AGERER, R. / RAMBOLD, G., 1996. DEEMY, a DELTA-based information system for Determination and characterization of EctoMYcorrhizae. - In: ICOM 1 (Eds. SZARO, T. / BRUNS, T.) University of California Berkeley, USA. s.17.
- AGERER, R. *et al.*, 1996. Descriptions of ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd (in press).
- ALLEN, M. F., 1991. The ecology of mycorrhizae. - Cambridge University Press Cambridge.180 s.
- ALLEN, M. F. / MOORE, T. S. Jr. / CHRISTENSEN, M., 1980. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae: I. Cytokinin increases in the host plant. - Can. J. Bot. 58, s.371-374.
- ALLEN, M. F. *et al.*, 1992. Mycorrhizae and the Integration of Scales: From Molecules to Ecosystems. - In: Mycorrhizal Functioning: An Integrative Plant-Fungal Process. (Ed.: ALLEN, M.F.) Routledge, Chapman & Hall, s.488-515.
- AMARANTHUS, M. P. / PERRY, D. A., 1994. The functioning of ectomycorrhizal fungi in the field: linkages in space and time. - Plant and Soil 159, s.133-140.
- ARNEBRANT, K. *et al.*, 1993. Nitrogen translocation between *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. seedlings inoculated with *Frankia* sp. and *Pinus contorta* Doug. ex Loud seedlings connected by a common ectomycorrhizal mycelium. - New Phytol. 124, s.231-242.
- ARNOLDS, E., 1988. The changing macromycete flora of the Netherlands. - Trans.Br.Myc. Soc. 90, s.391-406.
- ARNOLDS, E., 1991. Decline of ectomycorrhizal fungi in Europe. - Agriculture, Ecosystems and Environment. 35, s.209-244.

- BRUNS, T. / GARDES, M., 1993. Molecular tools for the identification of ectomycorrhizal fungi - taxon specific oligonucleotide probes for suilloid fungi. - *Molecular Ecology* 2, s.233-242.
- BRUNS, T.D. / WHITE, T.J. / TAYLOR, J.W., 1991. Fungal molecular systematics. - *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 22, s.525-564
- CHEVALIER, G. / FROCHOT, H., 1988. Ecology and possibility of culture in Europe of the Burgundy truffle (*Tuber uncinatum* Chatin). - *Agriculture Ecosystems & Environment* 28, 1/4, s.71-74.
- CLEYET-MAREL, J.C. / BOUSQUET, N. / MOUSAIN, D., 1988. The immunochemical approach for the characterization of ectomycorrhizal fungi. - *Agriculture Ecosystems & Environment* 28, 1/4, s.79-84.
- COLEMAN, M.D. / BLEDSOE, C.S. / SMIT, B., 1990. Root hydraulic conductivity and xylem sap levels of zeatin riboside and abscisic acid in ectomycorrhizal Douglas fir seedlings. - *New Phytol.* 115, s.275-284.
- CULLINGS, K.W., 1992. Design and testing of a plant-specific PCR primer for ecological and evolutionary studies. - *Molecular Ecology* 1, s.233-240.
- CURL, E.A. / TRUELOVE, B., 1986. *The rhizosphere*. - Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo, 288 s.
- DAHLBERG, A., 1992. Somatic incompatibility - A Tool to Reveal Spatiotemporal Mycelial Structures of Ectomycorrhizal Fungi. - In: *Mycorrhizas in Ecosystems* (Eds: READ, D.J. *et al.*) C.A.B.International, Cambridge, s.135-141.
- DEACON, J. W. / FLEMING, L. V., 1992. Interactions of Ectomycorrhizal Fungi. - In: *Mycorrhizal Functioning: an Integrative Plant-Fungal Process*. (Ed.: ALLEN, M.F.) Routledge, Chapman & Hall, s.249-300.
- DIGHTON, J., 1991. Acquisition of nutrients from organic resources by mycorrhizal autotrophic plants. - *Experientia* 47, s.362-369.
- DIGHTON, J. / BODDY, L., 1988. Role of fungi in nitrogen, phosphorus and sulphur cycling in temperate forest ecosystems. - In: *Nitrogen, phosphorus and sulphur utilization by fungi. Symposium of the British Mycological Society* (Ed: BODDY, L. / MARCHANT, R. / READ, D.J.). s.269-299.
- DIXON, R. K. / GARRETT, H. E. / COX, G. S., 1988. Cytokinins in the pressure exudate of *Citrus jambhiri* Lush. colonized by vesicular-arbuscular mycorrhizae. - *Tree Physiology* 4, s.9-18.

- DURALL, D. *et al.* 1996. The effect of opening size on ectomycorrhizal diversity and fruitbody production in the coast-interior transition forests of northwestern British Columbia. - In: ICOM 1 (Eds. SZARO, T. / BRUNS, T.) University of California Berkeley, USA. s.45.
- EBERHART, J.L. / LUOMA, D.L. / AMARANTHUS, M.P., 1996. The link between ectomycorrhizae and sporocarp production. - In: ICOM 1 (Eds. SZARO, T. / BRUNS, T.) University of California Berkeley, USA. s.46.
- ERLAND, S. *et al.*, 1994: Identification of the ectomycorrhizal basidiomycete *Tylospora fibrillosa* Donk by RFLP analysis of the PCR-amplified ITS and IGS regions of ribosomal DNA. - New Phytol. 126, s.525-532.
- FELLNER, R., 1989. Mycorrhiza-forming fungi as bioindicators of air pollution. - Agr., Ecos. and Environment 28, s.115-120.
- FITTER, A.H., 1991. Costs and benefits of mycorrhizas: Implications for functioning under natural conditions. *Experientia* 47, s.350 - 354.
- FRANCIS, R. / READ, D.J., 1984. Direct transfer of carbon between plants connected by vesicular-arbuscular mycorrhizal mycelium. - *Nature* 307, s.53-56.
- FRANK, A.B., 1885. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. - *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 3, s.128-145.
- GABROVŠEK, K. / GOGALA, N., 1990. Vpliv nekaterih ektomikoriznih gliv na rast sadik smreke (*Picea abies* (L.) Karst.). - *Biol. vestn.* 38, s.47-56.
- GARBAYE, J., 1994. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. - *New Phytol.* 128, s.197-210.
- GARDES, M. *et al.*, 1991. Identification of indigenous and introduced symbiotic fungi in ectomycorrhizae by amplification of nuclear and mitochondrial ribosomal DNA. - *Can.J.Bot.* 69, s.180-190.
- GARDES, M. / BRUNS, T.D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. - *Molecular Ecology* 2, 113-118.
- GARDES, M. / BRUNS, T.D., 1996. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above- and below-ground views. - *Can. J. Bot.* 74 (in press).
- GIANINAZZI-PEARSON, V., 1984. Host-Fungus Specificity, Recognition and Compatibility in Mycorrhizae. - In: *Genes involved in Plant-Microbe Interactions* (Ed: Verma, Hohn), s.225-254.
- GOGALA, N., 1991. Regulation of mycorrhizal infection by hormonal factors produced by fungi. - *Experientia* 48, s.331-339.

- GOGALA, N. *et al.*, 1991. Growth regulator jasmonic acid influence the mineral content in *Laccaria laccata*. - In: Mycorrhizas in Ecosystems-Structure and function. 3ESM, Sheffield, Abstract No.209.
- GOODMAN, D.M. *et al.*, 1996. A manual of concise descriptions of North American ectomycorrhizae. - Mycologue Publications, Canadian Forest Service, Canada (in press).
- HARLEY, J. L. / HARLEY E. L., 1987. A check-list of mycorrhiza in the british flora. - New Phytologist 105, s.1-102.
- HARLEY, J. L. / SMITH, S.E., 1983. Mycorrhizal Symbiosis. - Academic Press, London & New York.
- HARTNETT, D., 1996. Mycorrhizal mediation of plant competition, demography, and species diversity in grasslands. - In: ICOM 1 (Eds. SZARO, T. / BRUNS, T.) University of California Berkeley, USA. s.60.
- HAUG, I. / PRITSCH, K., 1992. Ectomycorrhizal Types of Spruce (*Picea abies* (L.)Karst.) in the Black Forest. A Microscopical Atlas. - Kernforschungszentrum Karlsruhe, 89 s.
- HETRICK, B.A.D., 1991. Mycorrhizas and root architecture. - Experientia, 47, 355-361.
- HUNT, G. A. / TRAPPE, J. M., 1987. Seasonal hypogeous sporocarp production in a western Oregon Douglas-fir stand. - Can. J. Bot 65, s.438-445.
- ICOM 1, 1996. Program and Abstracts, First International Conference on Mycorrhizae. August 4-9, 1996, (Eds. SZARO, T. / BRUNS, T.) University of California Berkeley, USA.
- INGLEBY, K. / MASON, P.A. / LAST F.T. / FLEMING L.V., 1990. Identification of ectomycorrhizas. - ITE research publication no.5, Institute of Terrestrial Ecology, s.112 pp.
- KILLHAM, K. , 1994. Soil ecology. - Cambridge University Press. Cambridge. 242 pp.
- KRAIGHER, H. *et al.*, 1991. Cytokinin production by two ectomycorrhizal fungi in liquid culture. - Phytochemistry 30, s.2249-2254.
- KRAIGHER, H. *et al.*, 1993. Cytokiningehalte von Fichtennadeln (*Picea abies* (L.) Karst) nach Inokulation mit zwei Stämmen des Mykorrhizapilzes *Thelephora terrestris* (Ehrh.) Fr.- Forstw. Cbl. 112, s.107-111.
- KRAIGHER, H., 1994a. Citokinini in tipi ektomikorize pri sadikah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) kot kazalci onesnaženosti gozdnih rastišč. - Doktorska disertacija, Oddelek za agronomijo, Biotehniška Fakulteta, Univerza v Ljubljani, 156 s.

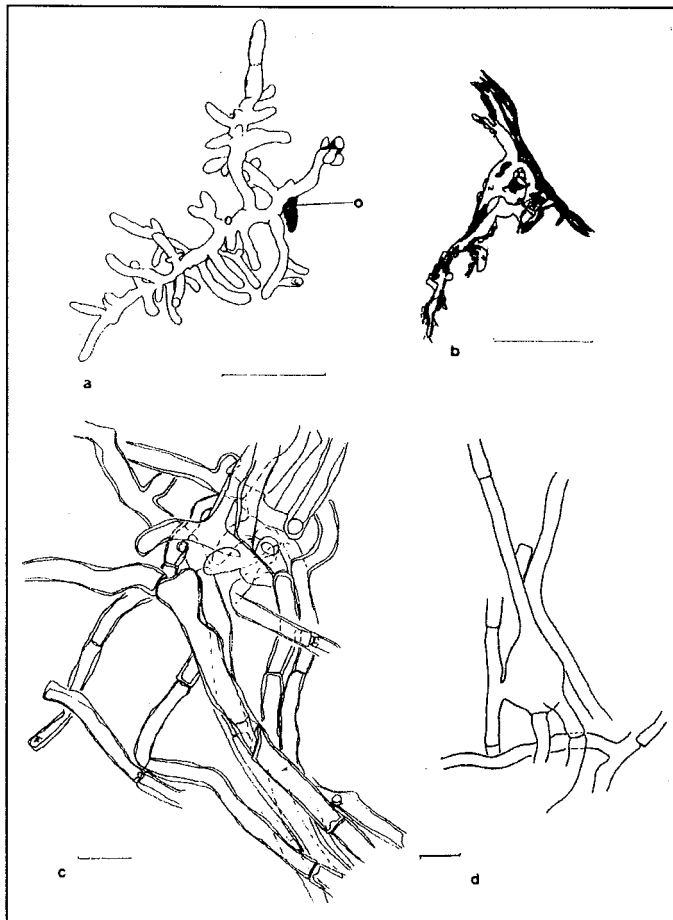
- KRAIGHER, H., 1994b. Molecular ecology in forestry: Taxonomy of ectomycorrhizae by anatomical characteristics and molecular markers. - In: Proc. of IPBA (Eds. B.JAVORNIK, B.BOHAJEC, I.KREFT), Rogla, December, 5. - 7., 1994. s.189-200
- KRAIGHER, H. / AGERER, R. / JAVORNIK, B., 1995a. Ectomycorrhizae of *Lactarius lignyotus* on Norway spruce, characterized by anatomical and molecular tools. - Mycorrhiza 5, s.175-180.
- KRAIGHER, H. / HANKE, D.E. 1995b. Cytokinins in Norway Spruce Seedlings, grown on different Soil Substrates. - Acta Pharmaceutica 45, 2, Suppl. 1, s.325-328.
- KRAIGHER, H. / BATIČ, F. / AGERER, R., 1995c. Mycobioremediation of forest site pollution. - In: Proceedings of the BIOFOSP (Eds. KRAIGHER H *et al*), 22.-31.08.1995, GIS in Odd. za agronomijo BF, Ljubljana, s.95-100.
- KRAIGHER, H., 1995d. Mikoriza nekaterih drevesnih in grmovnih vrst v Sloveniji. - V: Prezrte drevesne vrste. XVII. Gozdarski študijski dnevi (Ed. M. KOTAR), Dolenjske Toplice, 9.-10.11.1995, s.127-138.
- KRAIGHER, H. / BATIČ, F. / AGERER, R. 1996. Types of ectomycorrhizae and mycobioremediation of forest site pollution. - Phytion (Horn, Austria) 36 (in press).
- LAST, F.T. *et al.*, 1987. Successions of sheathing mycorrhizal fungi. TREE, 2, s.157-161.
- LE TACON, F., 1996. Nursery and field response to ectomycorrhizal inoculation of forest trees in western Europe. - In: ICOM 1 (Eds. SZARO, T. / BRUNS, T.) University of California Berkeley, USA. s.75.
- MARSCHNER, H., 1991. Mineral Nutrition of Higher Plants. - Academic Press, London, 674 s.
- MARSCHNER, H., 1992. Nutrient dynamics at the soil-root interface (rhizosphere). - In: Mycorrhizas in ecosystems (Eds.: READ, D.J. *et al.*). C.A.B. International. Cambridge Univ. Press, Cambridge, s.3-12.
- MARSCHNER, H., 1995. Mineral nutrient acquisition in nonmycorrhizal and mycorrhizal plants. - In: Proc. of BIOFOSP (Eds. KRAIGHER, H. *et al.*). Slovenian Forestry Institute & Agronomy Department of the Biotechnical Faculty, Ljubljana, s.101-106.
- MARX, D. H., 1969. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. - Phytopathology 59, s.153-163.
- MARX, D. H. / BRYAN, W. C., 1970. Pure culture synthesis of ectomycorrhizae by *Thelephora terrestris* and *Pisolithus tinctorius* on different conifer hosts. - Can.J.Bot. 48, s.639-643.

- MARX, D.H. / BRYAN, W.C., 1975. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. - For.Sci. 21, s.245-254.
- McINTYRE, J.L. / PRESS, L.S. 1991. Formulation, delivery systems and marketing of biocontrol agents and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). - In: (KEISTER, DL / CREGAN, PB) The rhizosphere and plant growth. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, s.289-298.
- MEHMANN, B. *et al.* 1995. Coincidence between molecularly or morphologically classified ectomycorrhizal morphotypes and fruitbodies in a spruce forest. - In: Biotechnology of Ectomycorrhizae (Eds. STOCCHI, V. *et al.*), Plenum Press, New York, s.41-52.
- MELIN, E., 1963. Some effects of forest tree roots on mycorrhizal Basidiomycetes. - In: Symbiotic associations (Ed: MOSSE, B. / NUTMAN, P.S.), Cambridge University Press, Cambridge, s.124-145.
- MEYER, F.H., 1973. Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forests. - In: Ectomycorrhizae (Ed: MARKS, G.C. / KOZLOWSKI, T.T.) Academic Press, New York, London, s.79-105.
- MILLER, S. L. / ALLEN E. B., 1992. Mycorrhizae, Nutrient Translocation, and Interaction Between Plants. - In: Mycorrhizal Functioning: An Integrative Plant-Fungal Process. (Ed.: ALLEN, M. F.) Routledge, Chapman & Hall, s.301-331.
- MOLINA, R. / MASSICOTTE, H. / TRAPPE J. M., 1992. Specificity Phenomena in Mycorrhizal. Symbioses: Community-Ecological Consequences and Practical Implications. - In: Mycorrhizal Functioning: An Integrative Plant-Fungal Process. (Ed.: ALLEN, M.F.) Routledge, Chapman & Hall, s.357-421.
- NYE, P.H. / TINKER, P.B., 1977. Solute movement in the soil / root system. - Blackwell Scientific Publications, Oxford, 342 s.
- O'DELL, T.E. / AMMIRATI, J.F., 1996. Diversity and abundance of ectomycorrhizal fungi: scaling in space and time. - In: ICOM 1 (Eds. SZARO, T. / BRUNS, T.) University of California Berkeley, USA, s.93.
- PANKOW, W. / BOLLER, T. / WIEMKEN, A., 1991. Structure, function and ecology of the mycorrhizal symbiosis. - Experientia 47, s.311-400.
- PILZ, D. / MOLINA, R., 1994. Managing forest ecosystems to conserve fungus diversity and sustain wild mushroom harvests. - USDA, Pacific northwest research station, Portland, Oregon, 104 s.
- READ, D.J., 1991. Mycorrhizas in Ecosystems. - Experientia 47, s.376-390.

- READ, D.J., 1992. The Mycorrhizal Mycelium. - In: Mycorrhizal Functioning: An Integrative Plant- Fungal Process. (Ed.: Allen, M. F.) Routledge, Chapman & Hall, s.102-133.
- RUEHLING, A. / SÖDERSTRÖM, B., 1989. Changes in fruitbody production of mycorrhizal and litter decomposing macromycetes in heavy metal polluted coniferous forests in north Sweden. - *Water, Air and Soil Pollution* 49, s.375-387.
- RYGIEWICZ, P.T. / ARMSTRONG, J.L., 1991. Ectomycorrhizal DNA: Isolation, RFLPs and Probe Hybridization. - In: Techniques for the study of mycorrhiza (Eds: NORRIS, J.R. / READ, D.J. / VARMA, A.K.). *Methods in microbiology* 23, Academic Press, London, s.253-280.
- SEN, R., 1992. Isozyme identification of individual ectomycorrhizas synthesized between Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and isolates of two species of *Suillus*. - *New Phytol.* 114, s.617-626.
- SIMARD, S. *et al.*, 1996. Ecological significance of carbon transfer in ectomycorrhizal tree species mixtures. - In: ICOM 1 (Eds. SZARO, T. / BRUNS, T.) University of California Berkeley, USA, s.110.
- SMITH, M.L. / BRUHN, J.N. / ANDERSON, J.B., 1992. The fungus *Armillaria bulbosa* is among the largest and oldest living organisms. - *Nature* 356, s. 428-431.
- TESTER, M. / SMITH, S. / SMITH, A., 1987. The phenomenon of nonmycorrhizal plants. - *Can.J.Bot.* 65, s.419-431.
- TRAPPE, J. M., 1962. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. - *Bot.Rev.*28, s.538-606.
- TURNAU, K. / KOTTKE, I. / OBERWINKLER, F., 1992. *Paxillus involutus*-*Pinus sylvestris* Mycorrhizae from Heavily Polluted Forest. - *Bot. Acta* 106, s.193-276.
- WERNER D., 1992. Symbiosis of plants and microbes. - Chapman & Hall, London, Glasgow, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.
- WULLSCHLEGER, S. D. / REID, C. P. P., 1990. Implication of ectomycorrhizal fungi in the cytokinin relations of loblolly pine (*Pinus taeda* L.). - *New Phytol.* 116, s.681-688.
- ZAK, B., 1971. Characterization and Identification of Douglas-Fir Mycorrhizae. - In: Mycorrhizae. Proc. 1st NACOM, USDA, Washington, D.C., s.38-53.

PRILOGE

Priloga 1



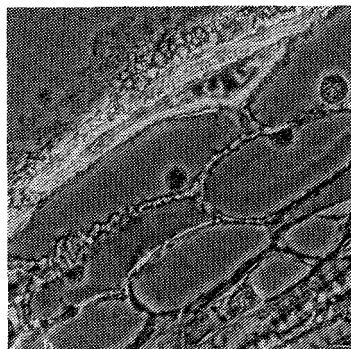
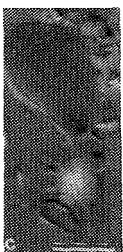
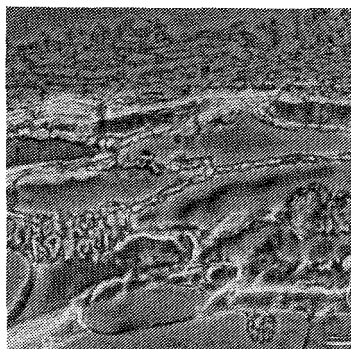
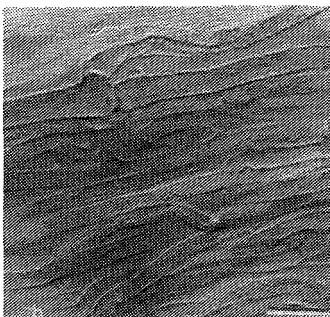
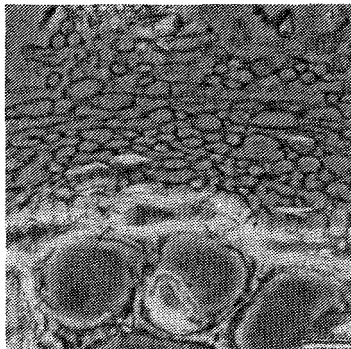
Habitus ektomikorize in skice značilnosti plašča. - Slika 4a: Tip ektomikorize, za katerega je značilno močno oprijemanje talnih delcev (označeni z O), doslej še nepopolno opisan tip, vrsta glivnega simbionta ni poznana, predlagano ime je *Piceirhiza terraphila* (po SLO 163) - Slika 4b: Doslej še nepopolno opisan tip ektomikorize na mladici smreke *Cortinarius camphoratus* Fr. x *Picea abies* (L.) Karst. Po svojih značilnostih je tipični predstavnik skupine tipov ektomikorize pri smrekah s koprenkami, zato bo verjetno za natančno identifikacijo potrebna dodatna molekularna karakterizacija (po SLO 438; risano prosto z binokularjem Olympus SZH, črtica pri obeh skicah habitusa označuje 1 mm). - Slika 4c: Skica razraščanja rizomorfov tipa ektomikorize, ki doslej še ni bil popolno opisan, predlagano ime je *Piceirhiza inflata*. Opazna so septa s centralno odebelitvijo brez zaponk. - Slika 4d: *Piceirhiza inflata*, skica značilno napihnjene hife (obe risbi po SLO 148; risano z nastavkom za mikroskop, črtica označuje 10 μm).

Annex 1:

Types of ectomycorrhizae on Norway spruce and mantle drawings. - Figure 4a: Type of ectomycorrhizae with strongly adhering soil particles (marked with O), not yet comprehensively described, the fungal symbiont unknown, the suggested name is *Piceirhiza terraphila* (after SLO 163). - Figure 4b: *Cortinarius camphoratus* Fr. x *Picea abies* (L.) Karst., not yet comprehensively described, a typical representative of types of ectomycorrhizae on Norway spruce with mycorrhizal fungi from the genus *Cortinarius*; therefore a molecular characterisation will probably be necessary to identify it in the future to the species level (after SLO 438; both figures drawn free with the aid of a binocular Olympus SZH, bar = 1 mm). - Figure 4c: Drawing of the ramification of a rhizomorph of an ectomycorrhizal type, which has not yet been comprehensively described; the suggested name is *Piceirhiza inflata*. Note the central globular thickening at the septa, mycelium without clamps. - Figure 4d: *Piceirhiza inflata*, drawing of an inflated hypha (both drawings after SLO 148; drawn with the aid of a drawing attachment on Olympus BDH, bar = 10 μm).

Priloga 2

Značilnosti različnih tipov ektomikorize pri smreki. - Slika 5a: Primerjava velikosti koreninskega laska pri sadiki smreke, vzgojene na umetnem substratu in hif ektomikorizne glive *Laccaria bicolor* (Maire) Orton



(svež preparat, črtica označuje 20 μm). - Slika 5b: Značilnosti hif v rizomorfu tipa ektomikorize *Hydnum rufescens* Fr. x *Picea abies* (L.) Karst. Zapončni micelij sestavljajo granulirane hife, ki so v področju sept napihnjene, se komplicirano razraščajo, septa s centralno odebelitvijo, rizomorf ni diferenciran (*Hydnum rufescens* x *Picea abies*). - Slika 5c: Značilno napihnjen konec hife (inflacija) (*Hydnum rufescens* x *Picea abies*). - Slika 5d: Visoko diferenciran rizomorf z odebeljeno hifo, pri kateri je delno reducirana septa (*Xerocomus badius* (Fr.) Kühn & Gilb. x *Picea abies* (L.) Karst). - Slika 5e: Laticifere (mlečni vodi) z mlečkom v plašču plektenhimskega tipa (*Lactarius lingyotus* Fr. x *Picea abies* (L.) Karst). - Slika 5f: Prečni prerez skozi ektomikorizo (*Hydnum rufescens* x *Picea abies*). Posamezne plasti predstavljajo izhajajoče hife (zgoraj) s taninimi delci, mikorizni plašč, v katerem so vidne centralne odebelitve v septih, inflacije in zaponke, plast taninskih celic in plast celic primarne skorje. - Slika 5g: Vzdolžni prerez skozi ektomikorizo (*Lactarius lingyotus* x *Picea abies*).

Opazne so temnejše taninske celice, prerez in površina Hartigove mreže v predelu celic primarne skorje. - Slika 5h: Vzdolžni prerez skozi ektomikorizo (*Cortinarius camphoratus* x *Picea abies*). Opazen je tanek naguban mikorizni plašč z izhajajočimi hifami, plast taninskih celic ter Hartigova mreža, ki sega do endoderma, kateremu sledi centralni cilindri s prevajalnimi elementi. (Slike 5b, c, f po SLO 404, slika 5d po SLO 432, sliki 5 e, g po SLO 428, slika 5h po SLO 438; slike 5b-e v mlečni kislini, NIC, Olympus BH2, Autophoto PM10-ADS; slike 5f-h: Historessin, 6 μm prerezi, PhC, črtica pri slikah 5b-h označuje 10 μm).

Annex 2

Characteristics of different ectomycorrhizal types on Norway spruce. Figure 5a: Comparison of a root hair on a Norway spruce seedling, grown on an artificial substrate, and hyphae of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* (Maire) Orton (fresh preparation, bar = 20 μm). - Figure 5b: Characteristics of hyphae in a rhizomorph of *Hydnum rufescens* Fr. x *Picea abies* (L.) Karst. The granulated hyphae with clamps are inflated close to the septa with a central globular thickening; the hyphae form complicated ramifications, the rhizomorphs are not differentiated (*Hydnum rufescens* x *Picea abies*). - Figure 5c: A characteristically inflated hyphal end (*Hydnum rufescens* x *Picea abies*). - Figure 5d: A highly differentiated rhizomorph with a thick central hypha, in which the septa are partially reduced (*Xerocomus badius* (Fr.) Kühn & Gilb. x *Picea abies* (L.) Karst). - Figure 5e: Laticifers (special hyphae with milky contents) in the plectenchymatous mantle (*Lactarius lingyotus* Fr. x *Picea abies* (L.) Karst). - Figure 5f: Cross section of an ectomycorrhizal root (*Hydnum rufescens* x *Picea abies*). Different layers represent emanating hyphae (upper part) with soil particles, the fungal mantle/sheath with central globular thickenings in septa, inflations and clamps, followed by a layer of tannin cells and a layer of cortex cells with Hartig net. - Figure 5g: Longitudinal section of an ectomycorrhizal root (*Lactarius lingyotus* x *Picea abies*) with tannin cells, cortex cells and the Hartig net. - Figure 5h: Longitudinal section of an ectomycorrhizal root (*Cortinarius camphoratus* x *Picea abies*), with a narrow fungal sheath with emanating hyphae, tannin cells and the Hartig net, which reaches the endoderm, followed by the stele with vascular tissue. (Figures 5b, c, f after SLO 404, figure 5d after SLO 432, figures 5 e, g after SLO 428, figure 5h after SLO 438; figures 5b-e in lactic acid, NIC, Olympus BH2, Autophoto PM10-ADS; figures 5f-h: Historesin, 6 μm sections, phase contrast, bar in figures 5b-h equals 10 μm).