

TOMASZ LESKI, MARIA RUDAWSKA

## Zbiorowiska grzybów ektomykoryzowych modrzewia europejskiego na powierzchni proveniencyjnej w LZD Krynica w Beskidzie Sądeckim\*

Ectomycorrhizal fungal communities of European larch from the provenance trial in the Experimental Forestry Unit in Krynica Zdrój (Beskid Sądecki Mountains)

### ABSTRACT

Leski T., Rudawska M. 2014. Zbiorowiska grzybów ektomykoryzowych modrzewia europejskiego na powierzchni proveniencyjnej w LZD Krynica w Beskidzie Sądeckim. Sylwan 158 (5): 352-360.

The effects of tree genotype on below-ground ectomycorrhizal fungal communities of 40 years old European larch from Kowary, Bliżyn, Świętokrzyski National Park and Szczytna Śląska origins was investigated. The research was carried out in the provenance trial in the Experimental Forestry Unit in Krynica Zdrój (Beskid Sądecki Mountains, S Poland). Ectomycorrhizal fungal communities were assessed by a combination of morphological and molecular techniques. In total 22 fungal taxa has been distinguished (from 17 to 20, depending on larch provenance). Thirteen ectomycorrhizal fungal taxa were common to all analysed origins. The mean taxa richness, Shannon diversity and Simpson dominance coefficient did not differ significantly between provenances. Based on fungal taxa composition (Jaccard coefficient) tested larch origins were characterized by a high level of similarity of ectomycorrhizal fungal communities. Six detected fungal taxa have not been previously reported as symbiotic partners of European larch.

### KEY WORDS

symbiosis, ectomycorrhiza, tree genotype, *Larix decidua*, ITS rDNA

### ADDRESSES

Tomasz Leski – e-mail: tleski@man.poznan.pl

Maria Rudawska – e-mail: mariarud@man.poznan.pl

Pracownia Badania Związków Symbiotycznych; Instytut Dendrologii PAN; ul. Parkowa 5; 62-035 Kórnik

### Wstęp

Mykoryza jest jedną z najpowszechniej występujących symbioz na kuli ziemskiej. Szacuje się, że korzenie drobne około 90% gatunków roślin wchodzi w mutualistyczne związki mykoryzowe z wyspecjalizowaną grupą grzybów glebowych [Smith, Read 2008]. Mykoryza niesie korzyści każdej ze stron i jest najczęściej niezbędna dla prawidłowego wzrostu oraz różnicowania się obu partnerów układu symbiotycznego. Stanowi także barierę ochronną przed patogenami, takimi jak grzyby chorobotwórcze, nicienie czy larwy owadów [Qu i in. 2010], a także wpływa łagodząco na skutki stresu środowiskowego wywołanego suszą lub skażeniem środowiska. Jednym z siedmiu wyróżnianych obecnie typów mykoryzy jest ektomykoryza. Rośliny ektomykoryzowe mają bardzo istotne znaczenie ekologiczne oraz ekonomiczne, stanowiąc dominujący składnik wielu ekosystemów leśnych, zwłaszcza strefy umiarkowanej i borealnej.

\* Badania zostały sfinansowane z funduszy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, obecnie Narodowego Centrum Nauki (projekt badawczy nr N N309 184737).

W ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie wpływem genotypu partnera roślinnego na strukturę zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych (GEM) [Korkama i in. 2006; Sthultz i in. 2009; Leski i in. 2010; Velmala i in. 2013]. Poprzez zbiorowisko rozumiane są w tym przypadku wszystkie gatunki GEM występujące łącznie w czasie i przestrzeni. Wiele z badań wskazuje na istotny wpływ genotypu na strukturę jakościową i ilościową zbiorowisk GEM u takich drzew jak *Picea abies* [Korkama i in. 2006; Velmala i in. 2013], *Pinus sylvestris* [Leski i in. 2010], *Populus* sp. [Khasa i in. 2002; Tagu i in. 2001, 2005] czy *Salix* sp. [van der Heijden, Kuyper 2001]. Wykazano również, że zdolność tworzenia mykoryz przez sosnę *Pinus ellioti* [Rosado i in. 1994] oraz różne klony topoli [Tagu i in. 2001; Courty i in. 2011] jest cechą dziedziczną.

Podobnie jak większość lasotwórczych gatunków drzew rosnących w polskich lasach, modrzew europejski (*Larix decidua* Mill.) jest gatunkiem obligatoryjnie ektomykoryzowym. W porównaniu do innych gatunków drzew zbiorowiska GEM towarzyszących modrzewiowi europejskiemu należą do bardzo słabo poznanych, a jedyne szczegółowe badania dotyczyły siewek modrzewia rosnących w szkółkach leśnych oraz w odnowieniu naturalnym [Leski i in. 2008; Leski, Rudawska 2012]. Badania wykonane w układzie chronosekwencji drzewostanów modrzewiowych na terenie Gór Świętokrzyskich (obszar występowania modrzewia polskiego) i Gór Opawskich (obszar występowania modrzewia sudeckiego) wykazały, że zbiorowiska GEM występujących na tych terenach różnią się pod względem jakościowym i ilościowym (Rudawska, Leski, dane niepublikowane). Uzyskane wyniki zrodziły pytanie, czy różnice te są spowodowane warunkami siedliskowymi i klimatycznymi, czy też wynikają raczej z genotypu partnera roślinnego.

Aby wyjaśnić to zagadnienie, podjęto badania zbiorowisk GEM występujących na powierzchni proveniencyjnej modrzewia europejskiego w Leśnym Zakładzie Doświadczalnym w Krynicy, na której rosną drzewa z różnych pochodzeń z terenu Polski. Analizy przeprowadzone na jednym stanowisku, w ramach doświadczenia proveniencyjnego, pozwalają na wyeliminowanie wpływu takich czynników jak ilość opadów, temperatura, typ siedliska czy chemizm gleby na skład i strukturę zbiorowisk GEM. Podstawową zmienną mogącą kształtować badane zbiorowisko GEM w takich warunkach pozostaje genotyp drzewa. Przyjęta hipoteza badawcza zakładała, że zbiorowiska GEM towarzyszące modrzewiom z różnych pochodzeń będą się różniły jakościowo i ilościowo.

## Materiał i metody

Materiał do badań (próby korzeniowo-glebowe) zebrano z powierzchni doświadczalnej założonej w 1968 roku na terenie Leśnego Zakładu Doświadczalnego w Krynicy. Powierzchnia ta jest jedną z pięciu powierzchni równoległych (Sękocin, Bliżyn, LZD w Rogowie, Siemianicach i Krynicy) założonych w celu oceny polskich pochodzeń modrzewia europejskiego. Stanowisko badawcze (49°21'N, 20°58'E) zlokalizowane jest w Karpackiej krainie przyrodniczo-leśnej, Dzielnicy Gorców i Beskidu Sądeckiego, w Leśnictwie Wojkowa. Powierzchnia usytuowana jest na wysokości 785 m n.p.m., czyli w środkowej części regła dolnego, w zasięgu lasów górskich, na terenie o wystawie południowo-wschodniej, po części również zachodniej. Doświadczenie proveniencyjne w LZD Krynica założone zostało na glebach porolnych, eutroficznych brunatnych (brunatne właściwe słabo oglejone i oglejone). Składa się z 102 poletek o wymiarach 20×20 m. Każde z 20 testowanych w ramach doświadczenia pochodzeń modrzewia wysadzono w pięciu powtórzeniach (z wyjątkiem pochodzenia z Dukli), dzieląc powierzchnię na pięć bloków. Szczegóły na temat powierzchni badawczej i analiz zmienności oraz wartości hodowlanej analizowanych proveniencji można znaleźć w pracy Kuleja [2001].

Do analiz zbiorowisk grzybów mykoryzowych próby korzeniowe pobierane były spod drzew reprezentujących 4 pochodzenia modrzewia: Bliżyn i Świętokrzyski Park Narodowy

(proweniencje z zasięgu występowania modrzewia polskiego) oraz Szczytna Śląska i Kowary (proweniencje z zasięgu występowania modrzewia sudeckiego). Próby glebowo-korzeniowe (20×20×20 cm) pobierano łopatką z centralnych części poletek. Spod każdego pochodzenia pobrano dwadzieścia prób (po pięć z 4 bloków). Łącznie do analiz mykoryz modrzewia pobrano 80 prób glebowo-korzeniowych, z których izolowano korzenie drobne z mykoryzami. Uzyskane w ten sposób mykoryzy dzielone były na typy morfologiczne (morfotypy) z wykorzystaniem mikroskopu stereoskopowego (Zeiss Stemi 2000C) o powiększeniu od 5 do 60×. Identyfikacja molekularna grzybów tworzących poszczególne morfotypy przeprowadzona została w oparciu o standardowe metody stosowane w Pracowni Badania Związków Symbiotycznych ID PAN (amplifikacja i sekwencjonowanie grzybowego regionu ITS rDNA, z wykorzystaniem starterów ITS1, ITS1F oraz ITS4). Szczegółowe informacje na temat analiz morfologicznych i molekularnych dostępne są w pracach Leskiego i in. [2010] oraz Leskiego i Rudawskiej [2012].

Zbiorowiska GEM towarzyszących każdej z analizowanych proveniencji modrzewia opisane zostały pod względem jakościowym (skład gatunkowy grzybów) oraz ilościowym (bogactwo gatunkowe grzybów, średnie bogactwo gatunkowe w próbie oraz względna obfitość występowania wyrażona procentowym udziałem poszczególnych zidentyfikowanych taksonów w ogólnej liczbie żywych mykoryz). Wyliczono również współczynniki różnorodności gatunkowej Shannona-Wienera ( $H'$ ) oraz dominacji gatunkowej Simpsona ( $c$ ). Stopień przebadania bogactwa gatunkowego zbiorowisk grzybów mykoryzowych określono na podstawie wskaźnika estymującego Jackknife 1 (First-order Jackknife), przy pomocy programu EstimateS 8.2.0. Podobieństwo jakościowe pomiędzy zbiorowiskami GEM towarzyszącymi poszczególnym proveniencjom wyliczono na podstawie współczynnika Jaccarda. Podobieństwo jakościowo-ilościowe określono na podstawie analizy podobieństw ANOSIM, z wykorzystaniem współczynnika Bruy-Curtisa, który uwzględnił zarówno liczbę gatunków, jak i względną obfitość ich występowania. W celu graficznego zobrazowania podobieństw na podstawie współczynnika Bruy-Curtisa wykonano również skalowanie wielowymiarowe (NMD, ang. non-metric multidimensional scaling). Analizy te wykonano z wykorzystaniem programu PAST 1.89. Analiza statystyczna wartości współczynników różnorodności gatunkowej Shannona-Wienera oraz dominacji gatunkowej Simpsona, jak również średniego bogactwa gatunkowego przeprowadzona została wykorzystaniem jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) w programie Statistica.

## Wyniki

Kolonizacja mykoryzowa korzeni drobnych modrzewia w analizowanych próbach zbliżała się do 100%. Obserwowano jedynie nieliczne korzenie z włośnikami. W oparciu o analizę morfologiczną mykoryz pochodzących ze wszystkich prób wyodrębniono łącznie 22 morfotypy mykoryzowe, które poddano dalszej analizie molekularnej. Na podstawie dobrej jakości sekwencji regionu ITS rDNA grzybowego 10 morfotypów mykoryzowych zidentyfikowano do poziomu gatunku, 5 do rodzaju i 1 do poziomu klasy (tab. 1). Pomimo szeregu prób uzyskania dobrej jakości produktu reakcji PCR identyfikacja molekularna sześciu pozostałych morfotypów nie powiodła się. Cztery z tych morfotypów zostały przypisane do poziomu rodzaju na podstawie wyraźnych cech morfologicznych, a dwa pozostałe zostały określone jako niezidentyfikowane (N1 i N2). Ze względu na niepełną identyfikację gatunkową w dalszej części pracy używane będzie pojęcie takson w odniesieniu do wszystkich wyróżnionych morfotypów mykoryzowych. Całkowite bogactwo gatunkowe zbiorowisk grzybów mykoryzowych badanych proveniencji wynosiło od 17 do 20 taksonów. Największą liczbą taksonów GEM charakteryzowały się proveniencje Kowary i Szczytna Śląska (po 20), najmniejszą proveniencja Bliżyn (17) (tab. 1). Średnie

Tabela 1.

Identyfikacja poszczególnych morfotypów mykoryzowych modrzewia europejskiego i względna obfitość ich występowania [%] oraz parametry opisujące zbiorowisko grzybów ektomykoryzowych  
 Identification of ectomycorrhizal morphotypes and their relative abundance [%] as well as observed total and mean taxa richness and estimated taxa richness of ectomycorrhizal fungal taxa, Shannon diversity and Simpson dominance coefficients

Wyróżniony takson	Podstawa identyfikacji (podobieństwo)	Wartość e	Bliźn	Świątokrzyski PN	Szczytna Śląska	Kowary
<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Cenococcum geophilum</i> HQ406817 (99%)	0,0	53,55	42,24	43,64	38,47
<i>Tomentella coerulea</i>	<i>Tomentella coerulea</i> UDB000266 (99%)	0,0	9,37	0,11	2,12	3,84
<i>Lactarius</i> sp.	uncultured <i>Lactarius</i> EU645595 (99%)	0,0	6,35	5,93	3,45	7,91
<i>Tylospora asterophora</i>	<i>Tylospora asterophora</i> GU550116 (99%)	0,0	6,23	13,11	5,93	11,97
Typ <i>Amphinema</i>	identyfikacja morfologiczna		5,16	3,82	11,62	2,51
<i>Ascomycta</i>	uncultured <i>Ascomycta</i> HQ212310 (99%)	e-140	4,83	3,91	3,64	4,29
<i>Inocybe cincinnata</i>	<i>Inocybe cincinnata</i> UDB001754 (98%)	0,0	4,27	5,39	3,49	2,51
<i>Tomentella stiposa</i>	<i>Tomentella stiposa</i> AY010277 (100%)	0,0	2,50	2,10	2,46	4,06
<i>Tuber puberulum</i>	<i>Tuber puberulum</i> HM190013 (99%)	0,0	2,44	4,25	4,64	8,50
Typ <i>Tomentella</i>	identyfikacja morfologiczna		1,85		0,79	3,18
Typ <i>Russula</i>	identyfikacja morfologiczna		1,42	3,59		1,47
<i>Hydnotrya bailii</i>	<i>Hydnotrya bailii</i> GQ149465 (98%)	0,0	0,63	0,54	1,32	2,38
<i>Telephora</i> sp.	uncultured <i>Telephora</i> FN393090 (99%)	0,0	0,62	3,56	3,01	0,97
<i>Russula</i> sp.	uncultured <i>Russula</i> HM044475 (99%)	e-128	0,43	3,94	4,72	1,13
<i>Laccaria amethystina</i>	<i>Laccaria amethystina</i> HM189776 (100%)	0,0	0,23	0,54	0,05	0,57
<i>Sebacina epigaea</i>	<i>Sebacina epigaea</i> AF490393 (100%)	0,0	0,06	0,13		2,29
N2			0,06		0,31	1,56
<i>Inocybe fuscidula</i>	<i>Inocybe fuscidula</i> AM882884 (98%)	0,0		0,06	4,64	
<i>Inocybe</i> sp.	uncultured <i>Inocybe</i> HQ336689 (99%)	0,0		4,24	2,65	1,96
<i>Cortinarius anomalus</i>	<i>Cortinarius anomalus</i> AJ889939 (100%)	0,0		2,47	1,11	0,41
Typ <i>Paxillus</i>	identyfikacja morfologiczna	-			0,34	
N1		-		0,08	0,08	0,04
Całkowite bogactwo gatunkowe			17	19	20	20
Średnie bogactwo gatunkowe			4,20±1,81	4,75±1,46	4,4 5±1,76	4,65±2,07
Estymator Jackknife 1			21,9	21,8	25,7	21,7
Współczynnik różnorodności (H')			0,85±0,47	1,10±0,29	0,95±0,46	1,03±0,36
Współczynnik dominacji (c)			0,55±0,24	0,41±0,14	0,50±0,23	0,45±0,15

bogactwo dla wszystkich prób wynosiło  $4,62 \pm 1,72$  taksonu, natomiast dla poszczególnych pochodzeń zawierało się w przedziale od  $4,35 \pm 1,81$  (Bliżyn) do  $4,95 \pm 1,47$  taksonów (Świętokrzyski PN) i nie różniło się istotnie statystycznie pomiędzy proveniencjami. Wśród 22 wyróżnionych taksonów grzybów mykoryzowych 13 związanych było ze wszystkimi badanymi proveniencjami modrzewia (tab. 1.). Do tej wspólnej grupy symbiontów grzybowych należały: *Cenococcum geophilum*, *Ascomycota*, *Hydnotrya bailii*, *Inocybe cincinnata*, *Laccaria amethystina*, *Lactarius* sp., *Russula* sp., *Thelephora* sp., *Tomentella coerulea*, *T. stiposa*, *Tuber puberulum*, *Tylospora asterophora* oraz typ *Amphinema*. Gatunkiem dominującym w zbiorowiskach grzybów mykoryzowych wszystkich pochodzeń modrzewia był grzyb *C. geophilum*, którego względna obfitość występowania wynosiła od 38,47 do 53,55%. Kolejnymi gatunkami pod względem obfitości występowania były *T. asterophora* (od 6,22 do 13,11%), *Lactarius* sp. (od 3,45 do 7,91%), *T. coerulea* (od 0,11 do 9,37%) i typ *Amphinema* (od 2,5 do 11,62%).

Różnorodność gatunkowa zbiorowisk grzybów mykoryzowych określona za pomocą współczynnika Shannona-Wienera przyjmowała wartości w przedziale od 0,85 (Bliżyn) do 1,10 (Świętokrzyski PN). Współczynnik dominacji gatunkowej Simpsona wahał się od 0,41 (Świętokrzyski PN) do 0,55 (Bliżyn). Zarówno wartości współczynnika różnorodności gatunkowej, jak i dominacji gatunkowej nie wykazywały istotnych różnic pomiędzy proveniencjami (tab. 1). Porównanie stwierdzonej liczby taksonów z liczbą oczekiwaną określoną za pomocą estymatora Jackknife 1 (tab. 1) wskazuje, że stopień poznania składu gatunkowego grzybów mykoryzowych dla poszczególnych proveniencji wynosił: 78,16% dla Bliżyna, 86,96% dla Świętokrzyskiego Parku Narodowego, 77,82% dla Szczytnej Śląskiej i 91,3% dla Kowar. Wartości współczynnika Jaccarda opisującego podobieństwo składu gatunkowego zbiorowisk GEm towarzyszących poszczególnym proveniencjom modrzewia wynosiły od 0,68 (Bliżyn – Szczytne Śląska) do 0,86 (Kowary – Świętokrzyski PN). Pozostałe wartości tego współczynnika przedstawiono w tabeli 2. Jakościowo-ilościowa analiza podobieństw ANOSIM wykonana w oparciu o współczynnik Bruy-Curtisa wykazała, że badane zbiorowiska GEm nie różniły się statystycznie między sobą (Global R=-0,004, p=0,57). Również porównanie w parach poszczególnych proveniencji nie wykazało istnienia różnic pomiędzy zbiorowiskami GEm (tab. 2). Analiza podobieństw ANOSIM została potwierdzona wynikami niemetrycznego skalowania wielowymiarowego (NMDS, ryc. 1). Na diagramie NMDS można zauważyć brak skupień punktów reprezentujących poszczególne proveniencje, co wyraźnie wskazuje na wysokie podobieństwo analizowanych zbiorowisk GEm.

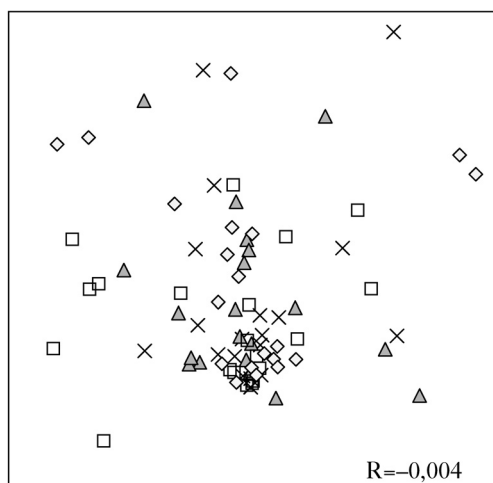
## Dyskusja

W literaturze naukowej brakuje informacji na temat interakcji genotypu modrzewia europejskiego i towarzyszących mu zbiorowisk GEm, prezentowane badania są więc pierwszym doniesieniem na ten temat. We wszystkich 80 pobranych próbach glebowych znaleziono łącznie

**Tabela 2.**

Podobieństwo gatunkowe Jaccarda (dolna lewa część) i analiza podobieństw ANOSIM (prawa górna część) między badanymi zbiorowiskami grzybów ektomykoryzowych  
Jaccard species similarity coefficient (bottom left) and analysis of similarity ANOSIM (top right) between tested ectomycorrhizal fungal communities

	Bliżyn	Świętokrzyski PN	Szczytne Śląska	Kowary
Bliżyn		0,005	0,006	-0,015
Świętokrzyski PN	0,71		0,002	-0,018
Szczytne Śląska	0,68	0,77		-0,002
Kowary	0,85	0,86	0,82	



Ryc.

Diagram ordynacyjny skalowania wielowymiarowego na podstawie współczynnika Bruy-Curtisa zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych towarzyszących modrzewiowi europejskiemu z czterech pochodzeń (LZD Krynica-Zdrój)

Nonmetric Multidimensional Scaling ordination diagram based on Bray-Curtis similarities comparing ectomycorrhizal fungal communities from European larch provenance trial (Experimental Forestry Unit in Krynica-Zdrój)

× Bliżyn                      Δ Świątokrzyski PN  
□ Szczytna Śląska        ◇ Kowary

19 283 mykoryz, a na podstawie sekwencjonowania regionu ITS rDNA grzybowego i morfotypowania w badanym materiale wyróżniono łącznie 22 taksony GEM. Całkowite bogactwo gatunkowe zbiorowisk GEM towarzyszącym drzewom poszczególnych proveniencji było zbliżone (od 17 do 20 taksonów). Analizowane pochodzenia modrzewia nie różniły się statystycznie pod względem parametrów opisujących zbiorowiska GEM (średnie bogactwo gatunkowe, różnorodność gatunkowa, dominacja), a zbiorowiska GEM charakterystyczne dla poszczególnych proveniencji wykazywały wysoki stopień podobieństwa składu gatunkowego (wartość współczynnika Jaccarda sięgała aż 0,86). Podobieństwo takie zanotowano pomiędzy zbiorowiskami GEM modrzewia z pochodzeń Kowary i Świątokrzyski Park Narodowy, a więc z obszarów występowania modrzewia sudeckiego i polskiego. Wysokie podobieństwo jakościowe pomiędzy proveniencjami wynika z faktu, że blisko 60% taksonów grzybów (13 z 22 wyróżnionych) było wspólnych dla wszystkich czterech proveniencji. Badane proveniencje nie różniły się między sobą także pod względem ilościowym, o czym świadczą wyniki analizy podobieństw ANOSIM i skalowania wielowymiarowego. Znaczne podobieństwo ilościowe pomiędzy zbiorowiskami wynika niewątpliwie z tego, że łączna względna obfitość występowania 13 taksonów grzybów wspólnych dla analizowanych proveniencji wahała się od 89,1% (Bliżyn) do 96,6% dla pochodzenia Kowary.

Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że w prezentowanych badaniach, w warunkach siedliskowych Beskidu Sądeckiego, pochodzenie modrzewia nie miało istotnego wpływu na strukturę jakościową i ilościową zbiorowisk GEM. Wyniki te nie potwierdziły większości wcześniejszych doniesień literaturowych mówiących o wpływie genotypu drzew na stopień kolonizacji mykoryzowej, jak również strukturę jakościową i ilościową zbiorowisk GEM. Rodzi się więc pytanie, z czego może wynikać brak różnic pomiędzy zbiorowiskami GEM związanych z analizowanymi pochodzeniami modrzewia. Wydaje się, że jedną z przyczyn może być wiek drzew. Wcześniejsze badania dotyczyły najczęściej siewek i sadzonek lub młodych drzew i prowadzone były w warunkach laboratoryjnych, szkółkach leśnych lub na uprawie [Korkama i in. 2006; Stultz i in. 2009; Leski i in. 2010; Velmała i in. 2013], tymczasem opisane tu badania przeprowadzone były na drzewach ponad czterdziestoletnich, co mogło spowodować, że zbiorowisko GEM osiągnęło już pewien poziom stabilizacji i wyrównania pomiędzy poszczególnymi

pochodzeniami. Brak różnic w strukturze zbiorowisk GEM pomiędzy kilkunastoletnimi klonami topoli wykazał także Karliński i in. [2013]. Również badania nad GEM towarzyszącymi indywidualnym dojrzałym drzewom buka (a więc reprezentującymi indywidualne genotypy) dowiodły, że poszczególne drzewa nie różnią się istotnie pod względem struktury zbiorowisk GEM [Bubner i in. 2013; Lang i in. 2013]. Brak różnic pomiędzy zbiorowiskami GEM badanych proveniencji modrzewia może wynikać także z faktu, że proveniencje te pochodziły z terenów o stosunkowo niewielkiej rozpiętości geograficznej, tym samym ich fenologia i właściwości fizjologiczne mające wpływ na nawiązywanie związków mykoryzowych były prawdopodobnie zbliżone, co mogło znaleźć odzwierciedlenie w strukturze zbiorowisk GEM.

Pomimo że hipoteza zakładająca wpływ genotypu modrzewia na strukturę jakościową i ilościową zbiorowisk GEM została zweryfikowana negatywnie, to przeprowadzone badania dostarczyły wielu nowych, cennych informacji na temat symbiontów mykoryzowych modrzewia europejskiego. Pod względem bogactwa gatunkowego zbiorowisko GEM występujących na powierzchni proveniencyjnej modrzewia w LZD Krynica było wyższe niż obserwowane wcześniej w szkołkach leśnych (7 taksonów) [Leski i in. 2008] czy w odnowieniu naturalnym (po 13 taksonów na dwu badanych stanowiskach) [Leski, Rudawska 2012]. Analizowane zbiorowiska GEM modrzewia charakteryzuje typowa struktura ilościowa, obserwowana w szeregu innych badań, gdzie kilka gatunków tworzy łącznie kilkadziesiąt procent zidentyfikowanych mykoryz, natomiast pozostałe występują z niewielką obfitością, często poniżej 1%. Taki rozkład obfitości występowania GEM nasuwa pytanie o rolę, jaką pełnią te nielicznie występujące GEM. Ich obecność wiązana jest z tzw. hipotezą funkcjonalnej nadmiarowości zbiorowisk GEM [Rineau, Courty 2011]. Wysokie bogactwo gatunkowe i obecność grupy grzybów tworzących tylko nieliczne mykoryzy może stanowić „wentyl bezpieczeństwa” dla drzew w przypadku zmian warunków środowiskowych wywołujących redukcję obfitości występowania dotychczas dominujących gatunków GEM. W takich warunkach ich miejsce mogą zająć grzyby, które wcześniej odgrywały niewielką rolę w zbiorowisku, przejmując funkcję gatunków ustępujących. Tym samym utrzymane mogą być wszystkie ważne funkcje mykoryz warunkujące prawidłowy wzrost i rozwój drzew.

Zbiorowisko GEM opisywane w niniejszych badaniach wykazało obecność gatunków pospolitych, kolonizujących różne gatunki partnerów roślinnych (*C. geophilum*, *L. amethystina*), ale także gatunków rzadkich (*T. asterophora*, *Sebacina epigaea*), jak również gatunków znajdujących się na Czerwonej liście grzybów Polski (*Cortinarius anomalus*, *Inocybe fuscidula*, *T. coreulea*). Jeden z gatunków – *H. bailii* – nie był wcześniej notowany na ziemiach polskich. Ciekawą grupę wśród wyróżnionych partnerów symbiotycznych modrzewia europejskiego stanowiły grzyby z rodziny *Thelephoraceae* (*Thelephora* sp., *T. coerulea*, *T. stuposa*, *Tomentella* sp.). Grzyby z rodzaju *Tomentella* charakteryzują się wytwarzaniem owocników rozpostartych (resupinatowych), powstających najczęściej na przylegającej do gruntu powierzchni martwych kłód, konarów czy też ściółki leśnej, dlatego są trudne do znalezienia i obserwacji dla mniej doświadczonego obserwatora. Stąd też analiza mykoryz przez nie tworzonych (zwłaszcza w oparciu o identyfikację molekularną) jest jednym z lepszych sposobów na poszukiwanie stanowisk tych grzybów. Należy również podkreślić, że dzięki przeprowadzonym badaniom udało się rozszerzyć listę gatunków grzybów wchodzących w mykoryzę z modrzewiem europejskim o 6 gatunków GEM. Grzybami tymi były: *C. anomalus*, *H. bailii*, *I. cincinnata*, *I. fuscidula*, *S. epigaea* i *T. puberulum*.

Ze względu na rosnące zainteresowanie wpływem genotypu partnera roślinnego na kształtowanie się związków symbiotycznych z grzybami mykoryzowymi oraz brak jednoznacznej odpowiedzi w tej kwestii wydaje się, że podobne badania powinny być kontynuowane, z uwzględnieniem pochodzeń drzew z jak najszerszego zasięgu geograficznego.

## Wnioski

- ✚ Czterdzieści lat wzrostu modrzewia w warunkach monokultury, na powierzchni proveniencyjnej w Beskidzie Sądeckim, pozwoliło na ukształtowanie się bogatego i zróżnicowanego zbiorowiska GEM. O dobrej kondycji mykoryzowej badanych drzew świadczy blisko 100-procentowy poziom kolonizacji korzeni drobnych modrzewi przez grzyby ektomykoryzowe.
- ✚ W analizowanym układzie badawczym (powierzchnia proveniencyjna w Beskidzie Sądeckim) pochodzenie modrzewia nie wpływa na strukturę jakościową i ilościową zbiorowisk GEM. Świadczy o tym brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy średnim bogactwem gatunkowym, różnorodnością gatunkową oraz współczynnikami dominacji, jak również wysoki stopień podobieństwa składu gatunkowego zbiorowisk GEM związanych z poszczególnymi proveniencjami.
- ✚ Badania zbiorowisk GEM poprzez identyfikację molekularną morfotypów mykoryzowych pozwalają ujawnić gatunki rzadkie, zagrożone, jak również takie, których owocniki są trudne do odnalezienia i identyfikacji (np. z rodzaju *Tomentella*).

## Literatura

- Bubner B., Fladung M., Lentzsch P., Münzenberger B., Hüttl R. F. 2013. Individual tree genotypes do not explain ectomycorrhizal biodiversity in soil cores of a pure stand of beech (*Fagus sylvatica* L.). *Trees* 27: 1327-1338.
- Cline M. L., Reid C. P. P. 1982. Seed source and mycorrhizal fungus effects on growth of containerized *Pinus contorta* and *Pinus ponderosa* seedlings. *Forest Science* 28: 237-250.
- Courty P. E., Labbé J., Kohler A., Marçais B., Bastien C., Churin J. L., Garbaye J., Le Tacon F. 2011. Effect of poplar genotypes on mycorrhizal infection and secreted enzyme activities in mycorrhizal and non-mycorrhizal roots. *Journal of Experimental Botany* 62: 249-60.
- Dixon R. K., Garrett H. E., Stelzer H. E. 1987. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine progenies inoculated with three isolates of *Pisolithus tinctorius*. *Silvae Genetica* 36: 240-245.
- van der Heijden E., Kuyper T. 2001. Does origin of mycorrhizal fungus or mycorrhizal plant influence effectiveness of the mycorrhizal symbiosis? *Plant and Soil* 230: 161-174.
- Karliński L., Rudawska M., Leski T. 2013. The influence of host genotype and soil conditions on ectomycorrhizal community of poplar clones. *European Journal of Soil Biology* 58: 51-58.
- Khasa P. D., Chakravarty P., Robertson A., Thomas B. R., Dancik B. P. 2002. The mycorrhizal status of selected poplar clones introduced in Alberta. *Biomass and Bioenergy* 22: 99-104.
- Korkkama T., Pakkanen A., Pennanen T. 2006. Ectomycorrhizal community structure varies among Norway spruce (*Picea abies*) clones. *New Phytologist* 171: 815-824.
- Kulej M., 2001. Zmienność oraz wartość hodowlana modrzewi różnych pochodzeń z terenu Polski w warunkach siedliskowych Beskidu Sądeckiego. Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. H. Kołłątaja, Kraków.
- Lang C., Finkeldey R., Polle A. 2013. Spatial patterns of ectomycorrhizal assemblages in a monospecific forest in relation to host tree genotype. *Frontiers in Plant Science* 4 (103): 1-9.
- Leski T., Aučina A., Skridaila A., Pietras M., Riepsas E., Rudawska M. 2010. Ectomycorrhizal community structure of different genotypes of Scots pine under forest nursery conditions. *Mycorrhiza* 20: 473-81.
- Leski T., Rudawska M. 2012. Ectomycorrhizal fungal community of naturally regenerated European larch (*Larix decidua*) seedlings. *Symbiosis* 56: 45-53.
- Leski T., Rudawska M., Aučina A. 2008. The ectomycorrhizal status of European larch (*Larix decidua* Mill.) seedlings from bare-root forest nurseries. *Forest Ecology and Management* 256: 2136-2144.
- Qu L., Makoto K., Choi D. S., Qureshi A. M., Koike T. 2010. The Role of Ectomycorrhiza in Boreal Forest Ecosystem. *Permafrost Ecosystems, Ecological Studies* 209 (4): 413-425.
- Rineau F., Courty P. E. 2011. Secreted enzymatic activities of ectomycorrhizal fungi as a case study of functional diversity and functional redundancy. *Annals of Forest Science* 68: 69-80.
- Rosado S. C. S., Kropp B. R., Piché Y. 1994. Genetics of ectomycorrhizal symbiosis. I. Host plant variability and heritability of ectomycorrhizal and root traits. *New Phytologist* 126: 105-110.
- Smith S. E., Read D. J., 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. 3rd edition, Academic Press, CA, USA.
- Sthultz C. M., Whitham T. G., Kennedy K., Deckert R., Gehring C. 2009. Genetically based susceptibility to herbivory influences the ectomycorrhizal fungal communities of a foundation tree species. *New Phytologist* 184: 657-67.
- Tagu D., Bastien C., Rampant P. F., Garbaye J., Vion P., Villar M., Martin F. 2005. Genetic analysis of phenotypic variation for ectomycorrhiza formation in an interspecific F1 poplar half-sib family. *Mycorrhiza* 15: 87-91.



- Tagu D., Rampant P. F., Lapeyrie F., Frey-Klett P., Vion P., Villar M. 2001. Variation in the ability to form ectomycorrhizas in the F1 progeny of an interspecific poplar (*Populus* spp.) cross. *Mycorrhiza* 10: 237-240.
- Thomson J., Matthes-Sears U., Peterson R. L. 1990. Effects of seed provenance and mycorrhizal fungi on early seedling growth in *Picea mariana*. *Canadian Journal of Forest Research* 20: 1739-1745.
- Velmalu S. M., Rajala T., Haapanen M. 2013. Genetic host-tree effects on the ectomycorrhizal community and root characteristics of Norway spruce. *Mycorrhiza* 23: 21-33.
- Walker C., Biggin P., Jardine D. C. 1986. Differences in mycorrhizal status among clones of Sitka spruce. *Forest Ecology and Management* 14: 275-283.
- Wang B., Qiu Y-L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16: 299-363.

## SUMMARY

### Ectomycorrhizal fungal communities of European larch from the provenance trial in the Experimental Forestry Unit in Krynica Zdrój (Beskid Sądecki Mountains)

We tested hypothesis that the host plant origin (genotype) influence the indigenous ectomycorrhizal fungal communities. Morphological and molecular analyzes were used to describe the ectomycorrhizal fungal communities connected with fine roots of 40 years old European larch (*Larix decidua*) of 4 different provenances (Kowary, Bliżyn, Świętokrzyski National Park and Szczytna Śląska) grown in the trial held in the Experimental Forestry Unit in Krynica Zdrój (Beskid Sądecki Mountains, southern Poland).

The fine roots of tested larch trees were fully colonized by mycorrhizal fungi. Morphological analysis revealed 22 fungal morphotypes. Based on molecular identification 10 of them were assigned to species, 5 to genus, and 1 to class level. Four morphotypes were identified based on morphological features, and two remained unidentified. Total taxa richness of ectomycorrhizal fungal communities ranged from 17 (Bliżyn) to 20 (Kowary and Szczytna Śląska). Thirteen ectomycorrhizal fungal taxa were common to all larch origins (*Cenococcum geophilum*, *Ascomycota*, *Hydnotrya bailii*, *Inocybe cincinnata*, *Laccaria amethystina*, *Lactarius* sp., *Russula* sp., *Thelephora* sp., *Tomentella coerulea*, *Tomentella stipitata*, *Tuber puberulum*, *Tylospora asterophora* and *Amphinema* type). The most abundant fungal taxa was *C. geophilum* (from 38.47 to 53.55% depending of the provenance), followed by *T. asterophora* (6.22-13.11%), *Lactarius* sp. (3.45-7.91%), *T. coerulea* (0.11-9.37%) and *Amphinema* type (2.5-11.62%).

No significant differences between provenances, in terms of mean taxa richness, taxa diversity, taxa dominance and analysis of the similarities were revealed. Tested larch origins were characterized by a high level of similarity of ectomycorrhizal fungal communities based on taxa composition (Jaccard coefficient ranged from 68 to 86%). Therefore, the hypothesis of European larch genotypes contributing to ectomycorrhizal fungal communities at the provenance trial in the Beskid Sądecki Mountains has to be rejected.

Six of detected fungi (*Cortinarius anomalus*, *H. bailii*, *I. cincinnata*, *I. fuscidula*, *Sebacina epigaea* and *T. puberulum*) were the first observation of these fungi as mycorrhizal partner of *L. decidua*. This type of research was performed on larch for the first time and clearly shows that it is worth the effort to look for further studies of the influence of tree genotype on ectomycorrhizal fungal communities.