

PIOTR ŁAKOMY, HANNA KWAŚNA, RADOŚLAW CIEŚLAK,  
MARTA MOLIŃSKA-GLURA, MAŁGORZATA DALKE-ŚWIDERSKA

## Zróżnicowanie genetyczne populacji *Heterobasidion annosum* sensu stricto i *Heterobasidion parviporum* w wybranych drzewostanach sosnowych i świerkowych w Polsce\*

Genetic diversity of *Heterobasidion annosum* sensu stricto and *Heterobasidion parviporum* in chosen Scots pine and Norway spruce stands in Poland

### ABSTRACT

Łakomy P., Kwaśna H., Cieślak R., Molińska-Glura M., Dalke-Świdorska M. 2012. Zróżnicowanie genetyczne populacji *Heterobasidion annosum* sensu stricto i *Heterobasidion parviporum* w wybranych drzewostanach sosnowych i świerkowych w Polsce. Sylwan 156 (4): 270-279.

The study was done in five Scots pine and five Norway spruce stands. Pine stands were infested by *Heterobasidion annosum* sensu stricto and spruce stands by *Heterobasidion parviporum*. In all stands the pathogens' genets were identified. In Scots pine stands 54 genets were found. The biggest one covered area of 160,2 m<sup>2</sup> and was isolated from 11 stumps. 40% of genets were isolated only from one stump, but in some cases two or three genets colonized the same stump. In Norway spruce stands 55 genets were found. In most cases they were small and only two covered area of 38,5 m<sup>2</sup> and 40 m<sup>2</sup>. The other ones colonized only one stump or more genets were found in the same stump. Genetic diversity among genets varied from 0 to 77%.

### KEY WORDS

*Heterobasidion* spp., genetic diversity, pathogen population

### ADDRESSES

Piotr Łakomy <sup>(1)</sup> – e-mail: plakomy@up.poznan.pl

Hanna Kwaśna <sup>(1)</sup>, Radosław Cieślak <sup>(1)</sup>, Marta Molińska-Glura <sup>(2)</sup>, Małgorzata Dalke-Świdorska <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Katedra Fitopatologii Leśnej; Uniwersytet Przyrodniczy; ul. Wojska Polskiego 71c; 60-625 Poznań

<sup>(2)</sup> Katedra Informatyki i Statystyki; Uniwersytet Medyczny; ul. Dąbrowskiego 79; 60-529 Poznań

### Wstęp

Huba korzeni powodowana przez grzyby rodzaju *Heterobasidion* jest jedną z najważniejszych pod względem gospodarczych chorób drzewostanów iglastych strefy klimatu umiarkowanego [Peace 1962; Gremmen 1970; Korhonen i in. 1998; Dai, Korhonen 1999]. Z gatunku *Heterobasidion annosum* sensu lato (korzeniowiec wieloletni) wyróżniono trzy gatunki *H. annosum* (Fr.) Bref. sensu stricto (korzeniowiec sosnowy), *H. parviporum* Niemelä et Korhonen (korzeniowiec drobnotopy) i *H. abietinum* Niemelä et Korhonen (korzeniowiec jodłowy) [Niemelä, Korhonen 1998]. W Polsce występują wszystkie trzy gatunki tego patogena [Łakomy 1996; Kowalski, Łakomy 1998; Łakomy i in. 2000]. Występowanie trzech gatunków *Heterobasidion* pokrywa się z zasięgami występowania ich głównych roślin gospodarzy, czyli odpowiednio sosny zwyczajnej

\* Badania prowadzono w ramach projektu finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N 303 078 31/2643.

dla *H. annosum* s. str., świerka pospolitego dla *H. parviporum* i jodły pospolitej dla *H. abietinum* [Łakomy, Werner 2003]. Zakres roślin gospodarzy, które są porażane przez korzeniowce, jest bardzo szeroki. Obejmuje ponad 200 gatunków drzew, krzewów czy krzewinek [Webb, Alexander 1985]. Oprócz gatunków iglastych grzyby rodzaju *Heterobasidion* notowano na dębach, grabie, buku, brzozie czy olszach [Wagn 1980; Łakomy, Werner 2003; Łakomy, Cieślak 2008]. Patogen rozprzestrzenia się w drzewostanach dzięki zarodnikom podstawkowym, które kolonizują świeże pniaki lub rany w odziomkowej części strzał świerkowych [Redfern, Stenlid 1998]. W zasiedlonym drzewostanie patogen rozprzestrzenia się w sposób wegetatywny dzięki grzybni, która przerasta z porażonych korzeni do zdrowych przez zrosty korzeniowe [Stenlid, Redfern 1998]. Pojawianie się nowych genotypów *Heterobasidion* w drzewostanach związane jest z zakażeniami powodowanymi przez zarodniki podstawkowe, wykonywanymi zabiegami hodowlanymi, stopniem zasiedlenia drzewostanu przez patogeny oraz występowaniem owocników. Większość badanych genotypów zasiedlała niewielki obszar drzewostanu ograniczający się do pojedynczego pniaka i jego systemu korzeniowego [Piri i in. 1990; Vasiliauskas, Stenlid 1998; Łakomy i in. 2007]. Stwierdzano także genotypy zasiedlające nawet więcej niż 10 drzew [Stenlid 1985; Piri, Korhonen 2001].

Celem pracy było zbadanie rozprzestrzeniania się *H. annosum* s. str. i *H. parviporum* w drzewostanach sosnowych i świerkowych, analiza występowania ich genotypów oraz ocena podobieństwa genetycznego populacji patogenów.

## Materiał i metody

**POWIERZCHNIE BADAWCZE.** Badania przeprowadzono w pięciu drzewostanach sosnowych zlokalizowanych w nadleśnictwach Bolewice (20 lat, 52°51'N; 15°34'E), Człopa (48 lat, 53°04'N; 16°05'E), Podanin (16 lat, 52°57'N; 17°03'E), Tuczno (17 lat, 53°10'N; 16°07'E) i Skwierzyna (47 lat, 52°32'N; 15°22'E) oraz w pięciu drzewostanach świerkowych zlokalizowanych w nadleśnictwach Henryków (78 lat, 50°40'N; 17°04'E), Szklarska Poręba (A: 55 lat, B: 60 lat, 50°51'N; 15°34'E) i Suwałki (A: 45 lat, B: 110 lat, 54°34'N; 23°01'E). Drzewostany z nadleśnictw Henryków i Suwałki rosły na gruntach porolnych. W każdym drzewostanie stwierdzono obecność grzybów rodzaju *Heterobasidion*. W drzewostanach 13-, 16- i 17-letnich pobierano systemy korzeniowe zamarłych sosen, natomiast w drzewostanach starszych pobierano drewno pniakowe oraz korzeni do badań laboratoryjnych. Każdy pniak lub drzewo, z którego pobierano materiał badawczy, trwale oznaczano i nanoszono jego pozycję na plan sytuacyjny.

**IZOLACJA I IDENTYFIKACJA PATOGENÓW.** Materiał badawczy po przywiezieniu do laboratorium myto pod bieżącą wodą i suszono w sterylnej bibule. Inokula pobrane z korzeni, odziomków oraz pniaków wykładano na 1% pożywkę maltozową (MERCK, Niemcy) z dodatkiem dwóch antybiotyków, neomycyny i streptomycyny oraz benomylu w płytkach Petriego. Po 4-5 dniach wyrosłą grzybnię *Heterobasidion* przeszczepiano na 1% pożywkę maltozową w probówkach. Identyfikację przeprowadzono na podstawie testu zgodności genetycznej grzybni [Korhonen 1978]. Liczbę genotypów zasiedlających każdy drzewostan określono za pomocą testu somatycznej zgodności grzybni [Stenlid 1985]. Oszacowano także powierzchnię, jaką w danym drzewostanie zasiedlały poszczególne genotypy.

**BADANIE ZRÓŻNICOWANIA GENETYCZNEGO.** Ekstrakcji DNA dokonano według procedury stosowanej w laboratoriach biologii molekularnej [Thompson, Henry 1995]. Profil amplifikacji uzyskano w PCR używając mikrosatelity M13 (5'-AGGGTGGCGGTTCT-3'; [Karlsson 1993]). Amplifikację wykonano w 25 µl roztworu zawierających: Tris-HCl 10 mM, pH 8; dNTPS

0,2 mM; MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM, Taq 1 U/μl minisatelity M13 12,7 μM i 20 ng DNA *Heterobasidion*. Termocykler zaprogramowano na wstępną denaturację na 93°C przez 3 minuty, następnie na 45 cyklów w 93°C przez 1 minutę, 55°C przez 1 minutę, 72°C przez 1 minutę i ostatecznie w 72°C przez 10 minut. Około 8 μl z każdego produktu amplifikacji wprowadzano w 1,4% żel agarowy z buforem TBE (40 mM Tris-borate, 1 mM EDTA, pH 8) i 0,5 μl/ml ethidium bromide). Elektroforezę przeprowadzono pod napięciem 90 V przez 2,5 godziny. Żel analizowano za pomocą UV transiluminatora Vilber Lourmat ECX-12.M oraz uniwersalnego systemu dokumentacji żelu POLYDOC (wersja 1.0). Stwierdzano obecność lub brak wektora minisatelity markeru M13 i na tej podstawie tworzono macierz euklidesową niezbędną dla obliczania podobieństwa genetycznego badanych populacji *Heterobasidion*. Dendrogram skonstruowano wykorzystując dystans genetyczny [Nei, Li 1979].

## Wyniki

W drzewostanach sosnowych stwierdzono występowanie *Heterobasidion annosum* sensu stricto (korzeniowiec sosnowy), natomiast w drzewostanach świerkowych *H. parviporum* (korzeniowiec drobnopory). Drzewostany sosnowe były silnie zasiedlone przez patogena, ponieważ stwierdzono jego obecność w od 42% (Bolewice) do 100% (Podanin) pniaków lub badanych drzew. Z kolei korzeniowiec drobnopory zasiedlał od 28% (Suwałki A) do 35% (Henryków i Szklarska Poręba B) pniaków w drzewostanach świerkowych.

W drzewostanach sosnowych stwierdzono obecność 54 genotypów *H. annosum* s. str. Najmniej z nich (5) występowało na powierzchni zlokalizowanej w Nadleśnictwie Bolewice, natomiast najwięcej (18) – w Nadleśnictwie Skwierzyna. Większość genotypów w Nadleśnictwie Skwierzyna zasiedlała pojedyncze pniaki bądź część karpki lub korzeni, a tylko cztery genotypy – po dwa pniaki. Powierzchnia drzewostanu zasiedlona przez te genotypy wynosiła od 0,4 m<sup>2</sup> do 17,3 m<sup>2</sup>. Największą powierzchnię zasiedloną przez pojedynczy genotyp stwierdzono w Nadleśnictwie Człopa – 160 m<sup>2</sup> (11 zasiedlonych pniaków, ryc. 1) oraz Tuczno – 80 m<sup>2</sup> (3 zasiedlone pniaki i 6 drzew).

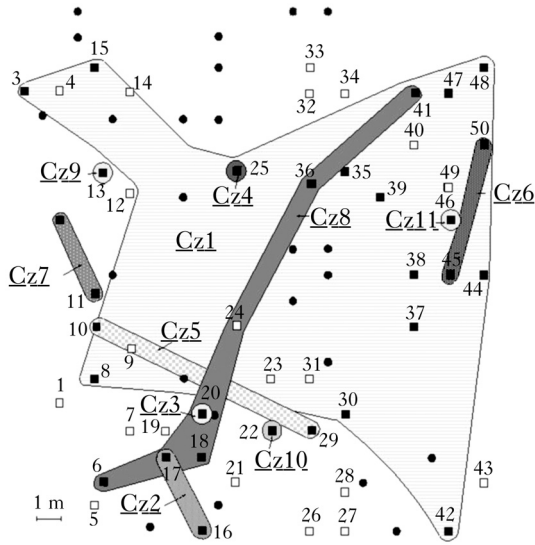
W drzewostanach świerkowych stwierdzono 55 genotypów *H. parviporum*. Najmniej (7) z nich występowało na powierzchni A w Nadleśnictwie Szklarska Poręba, a najwięcej (14) – w Nadleśnictwie Henryków. Powierzchnia zajmowana przez genotypy korzeniowca drobnopory

**Tabela.**

Charakterystyka drzewostanów pod względem ich zasiedlenia przez grzyby rodzaju *Heterobasidion* oraz liczby genotypów i powierzchni przez nie zajmowanej

Characteristic of stands considered infestation by *Heterobasidion* spp., number and genet size

Nadleśnictwo	Gatunek drzewa	Zakres podobieństwa genetycznego [%]	Średnie podobieństwo populacji [%]
Bolewice	Sosna	0-68	39,0
Człopa	Sosna	0-59	34,5
Podanin	Sosna	0-61	36,8
Skwierzyna	Sosna	0-63	32,0
Tuczno	Sosna	0-59	39,1
Henryków	Świerk	0-77	47,7
Suwałki A	Świerk	0-78	42,8
Suwałki B	Świerk	0-68	50,3
Szklarska Poręba A	Świerk	0-70	40,0
Szklarska Poręba B	Świerk	0-74	38,3



Ryc. 1.

Zasięg poszczególnych genotypów *H. annosum* s. str. w Nadleśnictwie Człopa

The range of *H. annosum* s. str. genets in Człopa Forest District

Cz1 – numer genotypu; ■ – pniak zasiedlony przez patogena; □ – pniak niezasiedlony; ● – sosna  
 Cz1 – genet number; ■ – colonized stump by pathogen; □ – no colonized stump; ● – pine

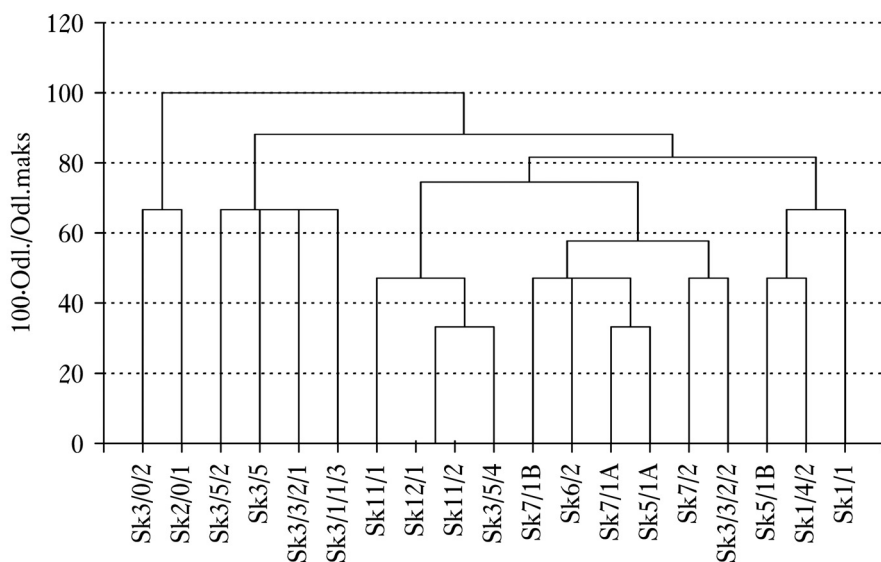
porogo w drzewostanach świerkowych była ograniczona do pojedynczego pniaka i jego systemu korzeniowego. Tylko w dwóch przypadkach na powierzchni B w Nadleśnictwie Szklarska Poręba stwierdzono genotypy zasiedlające po dwa pniaki. W 46% pniaki zasiedlone były równocześnie przez dwa lub trzy genotypy. Przy czym grzybnie tych genotypów izolowano zarówno z drewna pniakowego, jak i korzeni.

Analiza indeksów podobieństwa genetycznego uzyskanych w systemie binarnym umożliwiła wyodrębnienie grup podobieństw w obrębie badanych genotypów. Najczęściej można było wyodrębnić dwie grupy podobieństwa genotypów, ale na czterech powierzchniach (Człopa, Suwałki A i B, Trzcianka) niemalże wszystkie genotypy były ze sobą spokrewnione. Zakres podobieństwa genetycznego pomiędzy genotypami wahał się od 0 do 77% (tab.). Największe zróżnicowanie genotypów stwierdzono dla *H. annosum* s. str. w Nadleśnictwie Skwierzyna (ryc. 2).

Genotypy zasiedlające ten sam pniak w 27% przypadków były genetycznie różne. Podobieństwo dwóch lub trzech genotypów zasiedlających ten sam pniak wynosiło 42-55% w Nadleśnictwie Tuczo, 12-52% w Nadleśnictwie Skwierzyna, 22-68% w Nadleśnictwie Henryków, 36-68% na powierzchni B w Nadleśnictwie Suwałki, 70% na powierzchni A i 24-78% na powierzchni B w Nadleśnictwie Szklarska Poręba. W Nadleśnictwach Tuczo i Suwałki stwierdzono po jednym genotypie, który różnił się genetycznie od pozostałych na tych powierzchniach. Pokrewieństwo pomiędzy genotypami było nieco niższe w drzewostanach sosnowych (32-39,1%) niż w świerkowych (38,3-50,3%) (tab.).

## Dyskusja

W badaniach nad zróżnicowaniem genetycznym populacji grzybów rodzaju *Heterobasidion* stwierdzono, że w jednej luce w drzewostanach iglastych może być aktywnych wiele genotypów patogena [Chase, Ulrich 1983; Garbelotto 1996]. W drzewostanach świerkowych genotypy mogą być duże i zasiedlać nawet 15 drzew [Stenlid 1985]. Potwierdzeniem rozprzestrzeniania się genotypów *H. annosum* z drzewa na drzewo były badania Piri i in. [1990] oraz Piri [1996]. Stwierdzili oni, że dany genotyp patogena może zasiedlać do 3 drzew. Z kolei Łakomy i in. [2007] dowiedli, że liczba genotypów zasiedlających drzewostany świerkowe może być znaczna, a rozmiary geno-



Ryc. 2.

Związek filogenetyczny pomiędzy badanymi genotypami *H. annosum* s. str. w Nadleśnictwie Skwierzyna  
Phylogenetic relationships amongst *H. annosum* s. str. genets in the Skwierzyna Forest District

typów niewielkie. Stwierdzili występowanie 24 genotypów *H. parviporum* o niewielkich rozmiarach, bo zasiedlających najwyżej pojedynczy pniak w 53-letnim drzewostanie świerkowym. Nawet cztery genotypy mogły kolonizować ten sam pniak. Podobne wyniki uzyskali w badanym 34-letnim drzewostanie sosnowym, gdzie stwierdzili występowanie aż 34 małych genotypów, z których każdy zasiedlał pojedynczy pniak. W pięciu przypadkach w jednym pniaku stwierdzili obecność dwóch genotypów, a w jednym – aż trzech. Podobne zróżnicowanie, jeżeli chodzi o liczbę genotypów, stwierdzono w niniejszych badaniach. Szczególnie widoczne było to w drzewostanach świerkowych, gdzie stwierdzono genotypy korzeniowca drobnoporego, zasiedlające głównie cały lub część pojedynczych pniaków i ich systemów korzeniowych. Częste były sytuacje egzystowania dwóch lub trzech genotypów na tym samym pniaku. Z kolei w drzewostanach sosnowych stwierdzono, że genotypy korzeniowca sosnowego mogą zasiedlać większe powierzchnie drzewostanu, a powierzchnia 160,2 m<sup>2</sup> jest największą potwierdzoną powierzchnią zasiedloną przez pojedynczy genotyp *H. annosum* s. str. w Polsce. Należy się spodziewać, że rzeczywista powierzchnia drzewostanu zasiedlana przez ten organizm może być większa, ponieważ przy szacowaniu powierzchni nie brano pod uwagę zasięgu systemu korzeniowego skrajnych pniaków. Występowanie wielu genotypów zasiedlających niewielkie powierzchnie może świadczyć o początkowej fazie kolonizacji drzewostanu przez grzyby rodzaju *Heterobasidion*. Taka sytuacja może być także wynikiem starzenia się populacji i wycofywania się patogenów z systemów korzeniowych drzew lub bardzo dużego zróżnicowania i występowania bardzo wielu organizmów konkurujących ze sobą w drewnie pniakowym i korzeni.

W drzewostanach naturalnych zróżnicowanie genetyczne jest mniejsze, ponieważ podstawowym sposobem rozprzestrzeniania się patogena jest wegetatywne przerastanie grzybni z jednego korzenia do drugiego [Swedjemark, Stenlid 1993]. Piri i Korhonen [2007] badając dwie występujące po sobie na tej samej powierzchni generacje drzewostanów świerkowych dowiedli, że 17,5% pniaków pozostałych po drzewach poprzedniej generacji było zasiedlonych przez

*H. parviporum*. Po 12 latach nie stwierdzono pojawienia się nowych genotypów, natomiast tylko 5 nowych drzew zostało porażonych przez patogena. Piri i Korhonen [2008] stwierdzili, że w 43- i 56-letnich drzewostanach świerkowych, w których wykonywano trzebieże, pojedynczy genotyp *H. parviporum* zasiedlał średnio 12,2 drzew, a na powierzchniach bez zabiegów trzebieży, średnio 6,7 drzew. Nowe genotypy, czyli takie, które nie były znalezione podczas badań prowadzonych przez autorów 10 lat wcześniej, zasiedlały odpowiednio średnio 1,8 drzewa na powierzchniach trzebieżowych i 1,2 drzewa na powierzchniach niepielęgnowanych. Bodles i in. [2005] analizując porażenie drzewostanu świerka sitchajskiego (*Picea sitchensis* ((Bong.) Carrière)) wykazali, że ten 45-letni drzewostan, w którym nigdy nie prowadzono zabiegów pielęgnacyjnych, był silnie porażony przez *H. annosum* s. str. Wykazali występowanie aż 25 genotypów patogena, z których największy rozciągał się na odległości 22,5 m. Z kolei Dalke i Łakomy [2009] stwierdzili występowanie genotypów *H. annosum* s. str. o znacznych rozmiarach w drzewostanach sosnowych z posadzeniem bukowym. Największy genotyp zasiedlał powierzchnię 84 m<sup>2</sup> i występował w trzech pniakach sosnowych i na 6 bukach.

Nie określono jeszcze średniej długości życia grzybni w środowisku naturalnym. Stenlid i Redfern [1998] stwierdzili, że największy genotyp *H. annosum* sensu lato zasiedlał powierzchnię drzewostanu o średnicy 50 m. Wiek tego patogena można oszacować na około 50 lat, ponieważ przyjmuje się, że grzybnia *Heterobasidion* sp. rozprzestrzenia się w martwym drewnie teoretycznie w średnim tempie około 50 cm/rok [Rishbeth 1951, 1957; Slaughter, Parmeter 1995; Bendz-Hellgren i in. 1999]. W niniejszych badaniach największy obszar zajmowany przez jeden genotyp patogena miał 160,2 m<sup>2</sup> (około 28 m średnicy) i można szacować, że genotyp ten miał około 28 lat.

Populacje *H. annosum* s. str. na powierzchniach badawczych charakteryzowały się dużym zróżnicowaniem genetycznym polegającym także na niskim pokrewieństwie między genotypami. Nieco wyższym podobieństwem charakteryzowały się populacje *H. parviporum*. Choć w przypadku obu patogenów stwierdzono osobniki bardzo blisko spokrewnione, jak i wiele niespokrewnionych genetycznie. Fakt ten potwierdza duże znaczenie zarodników podstawkowych w procesie rozprzestrzeniania się patogena i zasiedlania drzewostanów przez pniaki po zabiegach pielęgnacyjnych. Dowodzi to także, że konieczna jest ochrona biologiczna drzewostanów sosnowych rosnących na gruntach porolnych już od zabiegów czyszczeń późnych. Teoretycznie najstarszy genotyp, który stwierdzono na powierzchni w Nadleśnictwie Człopa, zasiedlił drzewostan w wieku około 10 lat. Ponieważ był to pierwszy drzewostan na gruncie porolnym, to do zasiedlenia doszło albo przez pniak powstały po czyszczeniu wczesnym, albo zakażeniu uległ zraniony system korzeniowy sosny, w sąsiedztwie którego rozwinęła się w glebie grzybnia patogena. Trzecią możliwością było przeniesienie zarodników *H. annosum* s. str. na ciele owadów, szkodników upraw i młodników sosnowych, np. szeliniaka sosnowca (*Hylobius abietis* L.).

Wielu badaczy [Sierota 1987, 1995; Stenlid 1987; Garboletto i in. 1994; Garboletto 1996; Piri 1996] stwierdziło, że występuje ścisły związek między liczbą niewłaściwie zabezpieczonych pniaków a wzrostem liczby genotypów patogena, które mogą wykazywać się wyższą agresywnością w stosunku do genotypów, które już opanowały drzewostan.

Dotychczasowe badania wskazują na istnienie preferencji poszczególnych gatunków *Heterobasidion* w stosunku do roślin głównych gospodarzy, ale także pokazują istnienie znacznego zróżnicowania agresywności poszczególnych izolatów w obrębie tej samej grupy oraz pomiędzy izolatami należących do różnych gatunków [Werner 1991; Stenlid, Swedjemark 1988; Stenlid 1994; Werner, Łakomy 2002a, b]. La Porta i in. [1997] oraz Werner i Łakomy [2002b] sugerują, że wielkość szkód w drzewostanie może zależeć od zróżnicowania genetycznego *H. annosum* s. str.

W badanych drzewostanach w większości przypadków istotną rolę w ich kolonizacji przez grzyby rodzaju *Heterobasidion* pełniły zarodniki podstawkowe. Silne zróżnicowanie genetyczne, obecność licznych zasiedlających niewielkie powierzchnie genotypów korzeniowców może wpływać na silniejszą konkurencję pomiędzy nimi o nisze ekologiczne oraz przyczynić się do wzrostu wpływu patogena na stan zdrowotny drzewostanu. W skrajnych przypadkach może prowadzić do utraty stabilności przez drzewostan i konieczności rozpoczęcia procesu jego przebudowy. Badania dowodzą, że możliwe jest wczesne, pierwotne zasiedlenie drzewostanu przez grzyby rodzaju *Heterobasidion*.

## Wnioski

- ✦ Silne zróżnicowanie genetyczne badanych populacji grzybów rodzaju *Heterobasidion* dowodzi, że zarodniki podstawkowe pełnią istotną rolę w rozprzestrzenianiu się patogenów oraz kolonizacji drzewostanów.
- ✦ Możliwa jest wczesna infekcja drzewostanu pierwszej generacji na gruncie porolnym, w fazie uprawy lub młodnika.
- ✦ Silna konkurencja pomiędzy licznymi genotypami grzybów rodzaju *Heterobasidion* występującymi w drzewostanach może wpływać na wielkość szkód gospodarczych.
- ✦ Istnieje nadal potrzeba profilaktycznego wykorzystywania metody biologicznej w ochronie drzewostanów sosnowych i świerkowych, rosnących na gruntach porolnych, przed chorobami systemów korzeniowych.

## Podziękowania

Autorzy artykułu pragną podziękować Paniom inż. Annie Ratajczak oraz inż. Arlecie Świetlik za pomoc w trakcie realizacji badań.

## Literatura

- Bendz-Hellgren M., Brandtberg P-O., Johansson M., Swedjemark G., Stenlid J. 1999. Growth rate of *Heterobasidion annosum* in *Picea abies* established on forest land and arable land. Scand. J. For. Res. 14 (5): 402-407.
- Bodles W. J. A., Beckett E., Zamponi L., Woodward S., Keča N., Capretti P. 2005. *Heterobasidion annosum* population recruitment and spread in a severely infected Sitka spruce stand in north east Scotland. W: Mańka M., Łakomy P. [red.]. Root and Butt Rots of Forest Trees. Proceedings of IUFRO Working Party 7.02.01. 11<sup>th</sup> International Conference on Root and Butt Rots. Poznań-Białowieża, Poland. 16-22 Aug. 2004: 83-93.
- Chase T. E., Ulrich R. C. 1983. Sexuality, distribution and dispersal of *Heterobasidion annosum* in pine plantations of Vermont. Mycologia 75 (5): 825-831.
- Dai Y-C., Korhonen K. 1999. *Heterobasidion annosum* group S identified in northeastern China. Eur. J. For. Path. 29: 273-279.
- Dalke M., Łakomy P. 2009. Genetic diversity of *Heterobasidion annosum* sensu stricto populations in chosen Scots pine stands with beech in understorey. Acta Sci. Pol. Silv. Colendar. Rat. Ind. Lignar. 8 (2): 17-24.
- Garboletto M. 1996. The genetic structure of populations of *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. from the global to local scale: implications for the biology, the epidemiology, and the evolution of a forest pathogen. Ph. D Thesis, University of California, Berkeley.
- Garboletto M., Cobb F., Bruns T., Orosina W., Slaughter G., Popenuck T. 1994. Preliminary results on the genetic structure of *Heterobasidion annosum* in white fir (*Abies concolor*) root decay centers. W: Johansson M., Stenlid J. [red.]. Proc. of the Eight IUFRO Conference on Root and Butt Rots. Sweden, Finland, August 1993. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. 227-232.
- Gremmen J. 1970. The actual situation of research and control of the root rot fungus (*Fomes annosus*) in the Netherlands. W: Proc. 3rd Int. Conf. on *Fomes annosus*. IUFRO, Denmark, 1968. 33-36.
- Karlsson J-O. 1993. Genetic variation in *Heterobasidion annosum* detected with M13 fingerprinting and ribosomal DNA probes. Esp. Mycol. 18: 48-56.
- Korhonen K. 1978. Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. Communicationes Instituti Forestalis Fenniae 94 (6): 1-25.



- Korhonen K., Capretti P., Karjalainen R., Stenlid J. 1998. Distribution *Heterobasidion annosum* intersterility groups in Europe. W: Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hütermann A. [red.]. *Heterobasidion annosum*, Biology, Ecology, Impact and Control, University Press, Cambridge. 93-104.
- Kowalski T., Łakomy P. 1998. A new record of *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. F group occurrence in Poland in connection with interesting mycological findings. *Phytopathol. Polon.* 15: 49-55.
- La Porta N., Capretti P., Kammiovirta K., Karjalainen R., Korhonen K. 1997. Geographical cline of DNA variation within the F intersterility group of *Heterobasidion annosum* in Italy. *Plant Pathology* 46: 773-784.
- Łakomy P. 1996. F group of *Heterobasidion annosum* found in Poland. *Eur. J. For. Path.* 26: 217-222.
- Łakomy P., Broda Z., Werner A. 2007. Genetic diversity of *Heterobasidion* spp. in Scots pine, Norway spruce and European silver fir stands. *Acta Mycologica* 42 (2): 203-210.
- Łakomy P., Cieślak R. 2008. Early infection of *Fagus sylvatica* by *Heterobasidion annosum* sensu stricto. *For. Path.* 38: 314-319.
- Łakomy P., Kowalski T., Werner A. 2000. Preliminary report on distribution of *Heterobasidion annosum* intersterility groups in Poland. *Acta Mycologica* 35 (2): 303-309.
- Łakomy P., Werner A. 2003. Distribution of *Heterobasidion annosum* intersterility groups in Poland. *For. Path.* 33: 1-8.
- Nei M., Li W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *PNAS* 76: 5269-5273.
- Niemelä T., Korhonen K. 1998. Taxonomy of the genus *Heterobasidion*. W: Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hütermann A. [red.]. *Heterobasidion annosum*, Biology, Ecology, Impact and Control, University Press, Cambridge. 27-33.
- Peace T. R. 1962. *Pathology of trees and shrubs*. Clarendon Press, Oxford.
- Piri T. 1996. The spreading of the S type of *Heterobasidion annosum* from Norway spruce stumps to the subsequent tree stand. *Eur. J. For. Path.* 26: 193-204.
- Piri T., Korhonen K. 2001. Infection of advanced regeneration of Norway spruce by *Heterobasidion parviporum*. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 937-942.
- Piri T., Korhonen K. 2007. Spatial distribution and persistence of *Heterobasidion parviporum* genets on a Norway spruce site. *Forest Pathology* 37: 1-8.
- Piri T., Korhonen K. 2008. The effect of winter thinning on the spread of *Heterobasidion parviporum* in Norway spruce stands. *Canadian Journal of Forest Research* 38: 2589-2595.
- Piri T., Korhonen K., Sairanen A. 1990. Occurrence of *Heterobasidion annosum* in pure and mixed spruce stands in Southern Finland. *Scandinavian Journal of Forest Research* 5: 113-125.
- Redfern D. B., Stenlid J. 1998. Spore dispersal and infection. W: Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hütermann A. [red.]. *Heterobasidion annosum*, Biology, Ecology, Impact and Control, University Press, Cambridge. 105-124.
- Rishbeth J. 1951. Observations on the biology of *Fomes annosus* with particular reference to East Anglian pine plantations. (II) Spore production, stump infection, and saprophytic activity in stumps. *Annals of Botany NS* 15 (57): 1-21.
- Rishbeth J. 1957. Some further observations on *Fomes annosus* Fr. *Forestry* 30: 69-89.
- Sierota Z. 1987. Czynniki sprzyjające występowaniu huby korzeni w drzewostanach sosnowych na gruntach porolnych. *Sylwan* 131 (11-12): 69-82.
- Sierota Z. 1995. Rola grzyba *Phlebiopsis gigantea* (Fr.: Fr) Jülich w ograniczaniu huby korzeni w drzewostanach sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) na gruntach porolnych. *Prace IBL* 810.
- Slaughter G., W., Parmeter J. R. Jr. 1995. Enlargement of tree-mortality centers surrounding pine stumps infected by *Heterobasidion annosum* in northeastern California. *Can. J. For. Res.* 25: 244-252.
- Stenlid J. 1985. Population structure of *Heterobasidion annosum* as determined by somatic incompatibility, sexual incompatibility and isoenzyme patterns. *Canadian Journal of Botany* 63: 2268-2273.
- Stenlid J. 1987. Controlling and predicting the spread of *Heterobasidion annosum* from infected stumps and trees of *Picea abies*. *Scan. J. For. Res.* 2: 187-198
- Stenlid J. 1994. Regional differentiation in *Heterobasidion annosum* W: Johansson M., Stenlid J. [red.]. *Proc. of the Eight IUFRO Conference on Root and Butt Rots*. Sweden, Finland, August 1993. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. 243-248.
- Stenlid J., Redfern D. B. 1998. Spread within Tree to Stand. W: Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hütermann A. [red.]. *Heterobasidion annosum*, Biology, Ecology, Impact and Control, University Press, Cambridge. 125-142.
- Stenlid J., Swedjemark G. 1988. Differential growth of S- and P-isolates of *Heterobasidion annosum* in *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 90 (2): 209-213.
- Swedjemark G., Stenlid J. 1993. Population Dynamics of the Root rot fungus *Heterobasidion annosum* following thinning of *Picea abies*. *Oikos* 66 (2): 47-254.
- Thompson D., Henry R., 1995. Single-step protocol for preparation of plant tissue for analysis by PCR. *Bio. Techniques* 19: 394-400.



- Vasiliauskas R., Stenlid J. 1998. Spread of S and P group isolates of *Heterobasidion annosum* within and among *Picea abies* trees in central Lithuania. Can. J. For. Res. 28: 961-966.
- Wagn O. 1980. Host plants of Fomes annosus in Denmark. W: Dimitri L. [red.]. Proc. of 5th conference on root and butt rots. Kassel, West Germany. Kassel: International Union of Forestry Research Organizations. 182-189.
- Webb R., Alexander S. 1985. An update host index for *Heterobasidion annosum*. Information series, College of Agriculture and Life Sciences, Virginia Polytechnic Institute and State University. 85 (2): 1-27.
- Werner A. 1991. Odporność sosny zwyczajnej na hubę korzeni i przebieg choroby siewek sosny zakażonych grzybem *Heterobasidion annosum*. Rozprawa habilitacyjna. PWRiL Poznań: 1-168.
- Werner A., Łakomy P. 2002a. Intraspecific variation in *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. for mortality rate on *Pinus sylvestris* L. and *Picea abies* (L.) Karst. seedlings grown in pure culture. Mycologia 94 (5): 855-860.
- Werner A., Łakomy P. 2002b. Host specialization of IS-group isolates of *Heterobasidion annosum* to Scots pine, Norway spruce and common fir in field inoculation experiments. Dendrobiology 47: 59-68.

## SUMMARY

### Genetic diversity of *Heterobasidion annosum* sensu stricto and *Heterobasidion parviporum* in chosen Scots pine and Norway spruce stands in Poland

*Heterobasidion* spp. cause root and butt rots of forest trees in the boreal zone. Pathogens cause one of the most important diseases in Polish forests. The aim of this work was to investigate i) *H. annosum* s. str. and *H. parviporum* spread in Scots pine and Norway spruce stands, ii) genets occurrence and iii) the genetic diversity of pathogens' populations. The study was done in five Scots pine stands (Bolevice, Człopa, Podanin, Tuczno and Skwierzyna forest districts) and in five Norway spruce stands (Henryków, Suwałki and Szklarska Poręba forest districts). In each stand the presence of *Heterobasidion* sp. was confirmed. Wood and roots from stumps were collected from each stand. In addition the situation map of stumps or trees localization was prepared. In Scots pines stands *Heterobasidion annosum* sensu stricto was found and in Norway spruce stands *H. parviporum*. Scots pine stands were higher infested by pathogen, which were found from 42% (Bolevice Forest District) to 100% (Podanin Forest District) stumps or trees. *Heterobasidion parviporum* colonized from 28% (Suwałki Forest District, stand A) to 35% (Henryków Forest District and Szklarska Poręba Forest District, stand B) spruce stumps. In Scots pine stands 54 genets of *H. annosum* s. str were identified on the base of somatic compatibility test. The biggest number of genets was noted in Skwierzyna Forest District (18) and the smallest in Bolevice Forest District (5). 40% of genets colonized single stumps or its part. The biggest genet covers area 160.2 m<sup>2</sup> and it was found in 11 stumps (Człopa, fig. 1). In Norway spruce stands 55 genets of *H. parviporum* were found. The smallest number of genets (5) were identified In the stand localized in Szklarska Poręba Forest District and the biggest number (14) in Henryków Forest District. The occurrence of almost all genets were restricted to a single stump or its part and only two genets covered bigger area – 38.5 m<sup>2</sup> and 40 m<sup>2</sup>. The analysis of genetic diversity allowed to distinguish similarity groups among investigated genets. The range of similarity derived from 0% to 77% (tab.). The highest genetic diversity was found in population of *H. annosum* s. str., which colonized pine stumps in Skwierzyna Forest District (fig. 2). Genets who occurred in the same stumps in 27% were genetically different. In other cases the similarity of two or three genets colonizing the same stumps derived from 12% to 70%. The genetic similarity amongst genets was lower in Scots pine (32%-39.1%) stands than in Norway spruce stands (38.3%-50.3%). In the most cases in investigated stands basidiospores of *Heterobasidion* played

an important role in stand colonization by. High genetic diversity, occurring small genets could influence on a strong competition of ecological niche among them and could cause to increase an influence of pathogen on health status of stand. There is a need to use a biological control against *Heterobasidion* both in Scots pine and Norway spruce stands.