

MARLENA BARANOWSKA, ROBERT KORZENIEWICZ, NATALIA KARTAWIK,  
JOLANTA BEHNKE-BOROWCZYK

## Pory roku a zbiorowisko grzybów zasiedlających pniaki czeremchy amerykańskiej\*

Seasonal changes in fungi colonies inhabiting black cherry stumps

### ABSTRACT

Baranowska M., Korzeniewicz R., Kartawik N., Behnke-Borowczyk J. 2019. Pory roku a zbiorowisko grzybów zasiedlających pniaki czeremchy amerykańskiej. Sylwan 163 (10): 872-880. DOI: <https://doi.org/10.26202/sylwan.2019094>.

Black cherry is an important invasive species in forest ecosystems in Poland. It developed mainly in Scots pine stands. The aim of the study was to identify microscopic fungi colonies inhabiting black cherry stumps. In the spring of 2017, wood samples were collected from stumps created after cutting in each subsequent month of 2016 in the Podanin Forest District (19°28'00"E, 52°04'00"N). Stumps up to 5 cm and more than 5 cm in diameter were selected for the study. In total, 72 discs from the first stage of the decomposition of wood were collected. The discs were drilled to obtain fine sawdust for further analysis. The trials were divided into four periods. DNA isolation was performed using the Plant Genomic DNA purification kit (ThermoScientific). The ITS<sup>1/2</sup> rDNA region was used for species identification. The analysis was carried out using specific primers. The obtained product was purified and sequenced using the Illumina SBS technology. The resulting sequence was compared using the BLAST algorithm with reference sequences from the NCBI database. The communities of fungi inhabiting the black cherry stumps differed from each other. The highest number of taxa was identified in samples from stumps over 5 cm sheared in autumn and winter, while the lowest in stumps up to 5 cm sheared in spring and winter. Fungi belonging to the Ascomycota and Basidiomycota, Blastocladiomycota, Glomeromycota, Zygomycota and non-cultivable fungi and organisms belonging to other kingdoms were identified. Saprophytes from *Menispora* sp. dominated on the analysed stumps. The collection of fungi of larger stumps was more diverse and more numerous than on stumps with a smaller diameter. A greater diversity of taxa was distinguished by the stumps of tree fallen in the growing season. The majority of the analyzed samples were dominated by Ascomycota. Basidiomycota clusters dominated in the winter. The predominant share of saprotrophs shows the distribution of stumps. The most desirable effect of the research would be the indication of naturally occurring saprotroph, whose operation would reduce the black cherry's yield strength. The applied method of sequencing based on the Illumina System was effective to determine the composition of the fungal population.

### KEY WORDS

Illumina System, invasive species, dead wood, saprotrophs, wood-decay fungus

\*Badania finansowane w ramach projektu PGL LP „Opracowanie sposobów zwalczania czeremchy amerykańskiej w drzewostanach sosnowych”, nr OR.271.3.13.2017.

## ADDRESSES

Marlena Baranowska <sup>(1)</sup>, Robert Korzeniewicz <sup>(1)</sup>, Natalia Kartawik <sup>(2)</sup>

Jolanta Behnke-Borowczyk <sup>(2)</sup> – e-mail: jolanta.behnke@up.poznan.pl

<sup>(1)</sup> Katedra Hodowli Lasu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu; ul. Wojska Polskiego 71a, 60-625 Poznań

<sup>(2)</sup> Katedra Fitopatologii Leśnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu; ul. Wojska Polskiego 71c, 60-625 Poznań

## Wstęp

Czeremcha amerykańska (*Prunus serotina* Ehrh.) zaliczana jest do najważniejszych gatunków inwazyjnych w ekosystemach leśnych Polski. Populacje tego gatunku dynamicznie rozwijają się przede wszystkim w drzewostanach sosnowych (*Pinus sylvestris* L.), a ich masowy pojaw w podszycie ogranicza odnawianie się i wzrost rodzimych gatunków drzew i krzewów [Starfinger i in. 2003; Juhász 2008; Głowacka 2014]. Ograniczenie występowania populacji gatunków inwazyjnych jest niezbędne w celu ochrony rodzimych gatunków [Najberek, Solarz 2011]. Zwalczenie inwazyjnych gatunków obcych należy do trudnych, a także czaso- i kosztochłonnych zadań gospodarki leśnej [Marciszewska i in. 2018]. Dotychczas nie opracowano skutecznych metod zwalczania czeremchy amerykańskiej [Namura-Ochalska 2012]. Stosowany jest sposób mechaniczny, na który składa się m.in. wycinanie czeremchy, jej wrywanie i obrączkowanie. Można także zastosować łączenie metody mechanicznej z chemiczną, np. obrączkowanie i opryskiwanie, wycinanie i stosowanie herbicydów dolistnie, co w Roztoczańskim i Kampinoskim Parku Narodowym okazało się skuteczne w walce z inwazją czeremchy [Namura-Ochalska, Borowa 2015; Tittenbrun, Radliński 2017]. Znaczną efektywność wykorzystywania herbicydów do ograniczenia populacji czeremchy potwierdzili także Van der Meersschau i Lust [1997]. W polskich lasach obowiązują ograniczenia w stosowaniu chemicznych środków ochrony roślin [Namura-Ochalska 2012], stąd alternatywę w stosunku do nich powinny stanowić metody biologiczne. Naukowcy wskazują na potencjał grzyba *Chondrostereum purpureum* (Pers.) w ograniczaniu populacji czeremchy amerykańskiej [Van den Meersschaut, Lust 1997; de Jong 2000; Roy i in. 2010]. Jednym z biopreparatów do walki z czeremchą jest BioChon – zawiesina grzybni *Ch. purpureum* [de Jong 2000]. Poza rolę *Ch. purpureum* w zwalczaniu czeremchy niewiele doniesień naukowych odnosi się do grzybów związanych z czeremchą amerykańską. Badania prowadzone w Kampinoskim Parku Narodowym dostarczyły informacji dotyczących grzybów wielkoowocnikowych związanych z martwym drewnem czeremchy [Namura-Ochalska, Borowa 2015; Marciszewska i in. 2018]. Brakuje natomiast informacji na temat zbiorowisk grzybów mikroskopowych zasiedlających drewno czeremchy amerykańskiej oraz zmian zachodzących w tym zbiorowisku wraz z następującymi po sobie porami roku.

Celem badań było zidentyfikowanie zbiorowisk grzybów mikroskopowych zasiedlających pniaki czeremchy amerykańskiej. Postawiono następujące hipotezy badawcze: i) większą różnorodnością będą wyróżniały się zbiorowiska grzybów pniaków drzew ścinanych w sezonie wegetacyjnym, ii) saprotrofy będą dominować w zbiorowisku grzybów pniaków czeremchy oraz iii) zbiorowiska grzybów większych pniaków będą charakteryzowały się większą różnorodnością.

## Materiał i metody

Wiosną 2017 roku pobrano dwucentymetrowe krążki drewna z pniaków powstałych po ścięciu czeremchy amerykańskiej w każdym kolejnym miesiącu 2016 roku w Nadleśnictwie Podanin (19°28'00"E 52°04'00"N). Do badań wybrano po 3 pniaki czeremchy amerykańskiej w korze do

5 cm średnicy – 36 sztuk (3 sztuki krążków z każdego miesiąca) oraz po 3 pniaki czeremchy w korze o średnicy powyżej 5 cm – 36 sztuk (3 sztuki krążków z każdego miesiąca). Łącznie do badań pobrano 72 krążki drewna z pniaków czeremchy, które sklasyfikowano do I stopnia rozkładu drewna według Huntera [1990]. Pobrane krążki drewna nawiercano wiertłem o średnicy 2 mm (wiertarka akumulatorowa, wiertła sterylizowane etanolem o stężeniu 70%) w celu uzyskania miałkich trocin do dalszych analiz. Próby podzielono na cztery okresy: wiosna (I) (marzec-maj), lato (II) (czerwiec-sierpień), jesień (III) (wrzesień-listopad) i zima (IV) (grudzień-luty). Próby oznaczono według klucza: Im – wiosna do 5 cm, Id – wiosna powyżej 5 cm (gdzie numeracja rzymska oznacza porę roku, litera m – pniaki do 5 cm, a litera d – pniaki powyżej 5 cm średnicy). Analogicznie oznaczono pozostałe próby. Próby miałkiego drewna roz tarto w móżdżerzu wymrożonym do  $-70^{\circ}\text{C}$ . Izolacja DNA została przeprowadzona z wykorzystaniem zestawu Plant Genomic DNA purification (ThermoScientific) zgodnie z protokołem producenta. Do identyfikacji gatunkowej zbiorowiska grzybowego został wykorzystany region ITS1/2 rDNA. Analizę przeprowadzono z wykorzystaniem specyficznych starterów ITS1 F12 – 5' GAA CCW GCG GAR TCA 3' oraz 5.8S – 5' CGC TGC GTT CTT CAT CG 3' [Schmidt i in. 2013]. Mieszanina reakcyjna składała się z: 2,5  $\mu\text{l}$  DNA, 0,2  $\mu\text{l}$  każdego startera, 10,6  $\mu\text{l}$  wody dejonizowanej oraz 12,5  $\mu\text{l}$  2X PCR MIX (A&A Biotechnology). Przeprowadzona w termocyklerze reakcja amplifikacji obejmowała: denaturację wstępną ( $94^{\circ}\text{C}$ , 5 min), 35 cykli denaturacji ( $94^{\circ}\text{C}$ , 30 s), annealing ( $56^{\circ}\text{C}$ , 30 s), elongację ( $72^{\circ}\text{C}$ , 30 s) i końcową elongację ( $72^{\circ}\text{C}$ , 7 min). Następnie produkt sprawdzono na 1-procentowym żelu agarozowym barwionym przez Midori Green Advance DNA (Genetics). Otrzymany produkt oczyszczono i sekwencjonowano z wykorzystaniem technologii SBS firmy Illumina (Genomed S.A., Warszawa).

Otrzymane wyniki poddano analizie bioinformatycznej (PIPITS, PEAR; FASTX, ITSx, UNITE) i analizie statystycznej. Wynikową sekwencję porównano za pomocą algorytmu BLAST z sekwencjami referencyjnymi z bazy danych NCBI. Identyfikację wykonano do rangi najniższej możliwego taksonu.

Różnorodność zbiorowiska przeanalizowano na podstawie liczby taksonów i wielkości populacji każdego taksonu w zbiorowisku grzybów. Obliczono indeksy różnorodności Margalefa (D-Mg), Shannona (H) i Simpsona (D), Shannona-Evennessa (E) i wskaźnik dominacji Bergera-Parkera (d) [Magurran 1988].

## Wyniki

Największą liczbę taksonów zidentyfikowano w próbach pozyskanych z pniaków powyżej 5 cm ścinanych jesienią i zimą (299), a najmniejszą w przypadku pniaków do 5 cm ścinanych wiosną (83) i zimą (48) (tab. 1).

W wyniku przeprowadzonej analizy zbiorowiska grzybów pniaków czeremchy zidentyfikowano grzyby należące do gromady Ascomycota – ich udział przekroczył 50% w próbach Im, Id, IIIm oraz IIIIm. Dominujący udział grzybów należących do gromady Basidiomycota uzyskano w próbach IID, IVm i IVd. Zidentyfikowano także nieliczne taksony należące do gromad Blastocladiomycota, Glomeromycota i Zygomycota oraz grzyby niehodowalne i organizmy należące do innych królestw. W zbiorowisku pniaków czeremchy dominowały grzyby uczestniczące w procesie dekompozycji drewna (tab 1.), do których zaliczono *Crociocreas* sp., *Dictyoachaeta* sp., *Exophiala* sp., *Menispora* sp., *Mollisia* sp., *Proliferodiscus* sp., *Cryptococcus* sp., *Curvibasidium cygneicollum*, *Cylindrobasidium evolkens*, *Fellozyma inositophila*, *Hamamotoa ligniphila*, *Peniophora* sp., *Postia rennyi*, *Resinicium bicolor*, *Rhodotorula* sp., *Sistotrema brinkmannii* i *Trichosporon* sp. Wśród grzybów patogenicznych zidentyfikowano *Barbatosphaeria* sp., *Colletotrichum* sp., *Dendrophoma*

Tabela 1.

Udział [%] taksonów grzybów w poszczególnych próbach  
 Fraction [%] of fungal taxa in individual samples

|  | Im    | Id    | II <sub>m</sub> | II <sub>d</sub> | III <sub>m</sub> | III <sub>d</sub> | IV <sub>m</sub> | IV <sub>d</sub> |
|--|-------|-------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| Ascomycota   | 12,58 | 16,00 | 2,43            | 2,56            | 1,14             | 9,43             | 20,04           | 3,45            |
| <i>Barbatosphaeria</i> sp.   | 0,00  | 0,00  | 0,00            | 0,65            | 0,00             | 1,52             | 0,00            | 0,00            |
| Cephalothecaceae   | 0,08  | 0,50  | 0,11            | 0,02            | 0,01             | 0,16             | 0,00            | 18,47           |
| Chaetothyriales  | 0,00  | 0,59  | 1,17            | 0,10            | 0,78             | 1,99             | 0,00            | 0,29            |
| <i>Colletotrichum</i> sp.  | 0,00  | 0,00  | 1,76            | 0,01            | 0,00             | 0,11             | 0,00            | 0,00            |
| <i>Crocicreas</i> sp.  | 0,21  | 0,02  | 5,49            | 0,03            | 0,00             | 0,04             | 0,00            | 0,02            |
| <i>Dendrophoma cytisporoides</i> Sacc.   | 0,00  | 0,00  | 1,67            | 0,00            | 0,04             | 0,10             | 0,00            | 0,16            |
| <i>Diaporthe</i> sp.   | 0,00  | 0,04  | 17,27           | 0,09            | 0,01             | 0,10             | 0,00            | 0,01            |
| <i>Dictyochaeta</i> sp.  | 0,16  | 0,02  | 13,83           | 0,10            | 0,00             | 0,00             | 0,00            | 0,01            |
| <i>Exophiala</i> sp.   | 0,00  | 1,01  | 0,40            | 0,86            | 0,03             | 0,62             | 0,00            | 0,15            |
| Helotiales   | 1,19  | 0,31  | 0,62            | 0,74            | 0,32             | 0,36             | 0,79            | 1,80            |
| Herpotrichiellaceae  | 0,04  | 2,70  | 1,75            | 0,51            | 0,33             | 4,78             | 0,00            | 1,99            |
| Lecanoromycetes  | 0,00  | 0,33  | 2,24            | 0,01            | 0,09             | 0,71             | 0,00            | 0,08            |
| Leotiomycetes  | 0,08  | 0,99  | 0,17            | 6,43            | 1,31             | 2,33             | 0,60            | 0,83            |
| <i>Mariannaea elegans</i> G. Arnaud  | 0,00  | 0,00  | 0,00            | 8,59            | 0,00             | 0,00             | 0,00            | 0,00            |
| <i>Menispora</i> sp.   | 0,00  | 0,16  | 0,06            | 0,01            | 49,54            | 0,01             | 0,00            | 0,03            |
| <i>Mollisia</i> sp.  | 0,00  | 0,02  | 0,00            | 3,41            | 0,00             | 0,04             | 0,00            | 0,00            |
| <i>Penicillium</i> sp.   | 5,35  | 1,14  | 0,78            | 1,11            | 0,09             | 0,22             | 0,79            | 0,19            |
| <i>Phacidium grevilleae</i> Crous & M.J. Wingf.  | 0,00  | 0,17  | 1,53            | 0,08            | 3,07             | 0,04             | 0,00            | 0,72            |
| <i>Phialocephala</i> sp.   | 0,33  | 0,57  | 0,01            | 0,22            | 0,01             | 2,72             | 0,00            | 1,71            |
| <i>Pleurophoma ossicola</i> Crous,<br>Krawczyński & H.O.G. Wagner                                      | 25,37 | 0,23  | 0,02            | 0,03            | 0,22             | 0,04             | 0,00            | 0,28            |
| <i>Proliferodiscus</i> sp.   | 0,41  | 14,75 | 0,83            | 5,64            | 0,00             | 2,81             | 0,00            | 4,70            |
| <i>Rhizoscyphus</i> sp.  | 0,00  | 1,32  | 0,00            | 0,00            | 0,00             | 0,18             | 0,00            | 0,00            |
| Saccharomycetales  | 0,00  | 0,26  | 0,01            | 4,87            | 0,00             | 1,63             | 0,00            | 0,00            |
| <i>Taphrina</i> sp.  | 0,00  | 0,04  | 0,03            | 0,03            | 0,01             | 6,15             | 0,00            | 0,20            |
| <i>Tumularia</i> sp.   | 0,08  | 2,24  | 0,44            | 0,03            | 3,75             | 0,12             | 0,00            | 0,11            |
| <i>Yarrowia lipolytica</i> (Wick., Kurtzman<br>& Herman) Van der Walt & Arx                            | 2,06  | 0,00  | 0,00            | 0,00            | 0,00             | 0,00             | 9,13            | 0,00            |
| Ascomycota – razem   | 54,85 | 56,25 | 58,25           | 44,62           | 64,46            | 47,70            | 37,30           | 40,83           |
| Ascomycota – in total  |       |       |                 |                 |                  |                  |                 |                 |
| Agaricales   | 0,16  | 0,05  | 2,31            | 0,40            | 0,40             | 0,40             | 0,20            | 0,29            |
| Agaricomycetes   | 0,04  | 0,02  | 0,03            | 0,69            | 17,51            | 0,26             | 0,00            | 0,08            |
| Auriculariales   | 0,04  | 0,00  | 1,67            | 0,02            | 0,04             | 0,02             | 0,00            | 0,00            |
| Basidiomycota  | 0,54  | 1,16  | 8,27            | 0,79            | 0,36             | 1,27             | 0,00            | 5,66            |
| Ceratobasidiaceae  | 0,00  | 0,00  | 0,00            | 0,00            | 0,00             | 0,00             | 5,36            | 0,08            |
| Ceratobasidium   | 0,00  | 0,00  | 0,00            | 11,94           | 0,75             | 0,00             | 0,00            | 0,00            |
| <i>Cryptococcus</i> sp.  | 0,04  | 0,64  | 2,28            | 0,12            | 0,34             | 1,25             | 0,00            | 2,04            |
| <i>Cuniculitrema polymorpha</i><br>R. Kirschner & J.P. Samp.   | 0,00  | 1,84  | 0,00            | 2,52            | 0,00             | 0,36             | 0,00            | 0,00            |
| <i>Curvibasidium cygneicollum</i> J.P. Samp.   | 0,00  | 1,61  | 0,14            | 0,20            | 0,07             | 0,60             | 0,00            | 10,24           |
| <i>Cylindrobasidium evolvens</i> (Fr.) Jülich  | 0,00  | 0,00  | 0,00            | 0,00            | 1,12             | 0,02             | 0,00            | 0,04            |
| <i>Cystobasidium</i> sp.   | 0,00  | 0,54  | 0,16            | 0,49            | 0,04             | 0,74             | 0,20            | 1,79            |
| Cystofilobasidiales  | 0,00  | 0,17  | 0,04            | 0,03            | 0,07             | 0,06             | 0,00            | 3,00            |
| <i>Fellozyma inositoliphila</i> (Nakase<br>& M. Suzuki) Q.M. Wang, F.Y. Bai,<br>M. Groenew. & Boekhout | 0,00  | 1,23  | 0,01            | 0,03            | 0,35             | 0,07             | 0,00            | 4,93            |

Tabela 1. ciąg dalszy

|   | Im    | Id    | IIIm  | IIId  | IIIIm | IIId  | IVm   | IVd   |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <i>Hamamotia lignophila</i> (I. Dill, C. Ramírez & A.E. González) | 0,00  | 1,04  | 0,01  | 1,03  | 0,00  | 0,70  | 0,00  | 0,03  |
| <i>Laetiporus</i> sp.   | 0,00  | 3,73  | 0,00  | 0,01  | 0,00  | 0,90  | 0,00  | 0,00  |
| <i>Malassezia</i> sp.   | 0,37  | 0,00  | 0,00  | 0,00  | 0,00  | 0,00  | 30,95 | 0,00  |
| <i>Microbotryomycetes</i> sp.                                     | 0,00  | 0,49  | 0,18  | 18,68 | 0,22  | 0,51  | 0,00  | 0,79  |
| <i>Mycena</i> sp.   | 6,09  | 0,16  | 13,87 | 0,11  | 0,00  | 0,00  | 2,38  | 0,08  |
| <i>Peniophora</i> sp.   | 0,00  | 0,02  | 0,00  | 0,00  | 5,73  | 0,00  | 0,00  | 0,01  |
| <i>Postia rennyi</i> (Berk. & Broome) Rajchenb.                   | 0,00  | 0,00  | 0,00  | 1,34  | 0,00  | 0,00  | 0,00  | 0,00  |
| <i>Resinicium bicolor</i> (Alb. & Schwein.) Parmasto              | 0,00  | 0,00  | 0,00  | 1,24  | 0,00  | 0,00  | 0,00  | 0,00  |
| <i>Rhodotorula</i> sp.  | 0,00  | 0,33  | 0,04  | 0,15  | 0,26  | 0,26  | 0,00  | 1,69  |
| <i>Sistotrema brinkmannii</i> (Bres.) J. Erikss.                  | 0,00  | 0,00  | 0,04  | 5,06  | 0,04  | 0,01  | 0,00  | 0,12  |
| Tremellales   | 0,00  | 0,66  | 0,62  | 0,25  | 0,69  | 0,65  | 0,00  | 1,76  |
| <i>Tremellomyces</i> sp.  | 0,00  | 1,18  | 0,47  | 0,34  | 0,24  | 0,59  | 0,20  | 6,20  |
| <i>Trichosporon</i> sp.   | 3,25  | 0,00  | 0,02  | 0,07  | 0,01  | 0,00  | 0,00  | 0,00  |
| Basidiomycota – razem   | 11,76 | 21,93 | 34,26 | 48,32 | 30,45 | 15,01 | 40,08 | 49,94 |
| Basidiomycota – in total  |       |       |       |       |       |       |       |       |
| Liczba taksonów   | 120   | 304   | 287   | 306   | 212   | 343   | 88    | 337   |
| Number od taxons  |       |       |       |       |       |       |       |       |
| Liczba taksonów grzybowych  | 83    | 281   | 254   | 274   | 180   | 299   | 48    | 299   |
| Number of fungi taxons  |       |       |       |       |       |       |       |       |

*cytisporoides* Sacc., *Diaporthe* sp., *Infundichalara minuta*, *Phialocephala* sp., *Pleurophoma ossicola*, *Taphrina* sp. i *Laetiporus* sp. W analizowanym zbiorowisku grzybów zidentyfikowano antagonistów *Penicillium* sp., *Yarrowia lipolytica* i *Cuniculitrema polymorpha* oraz grzyby mykoryzowe: *Rhizoscyphus* sp. i *Mycena* sp. (tab. 1).

W próbie IIIId najliczniej występował takson *Menispora* sp. (blisko 50%), który zaliczany jest do saprotrofów. Liczny udział w zbiorowisku grzybów pniaków czeremchy amerykańskiej miał takson Ascomycota: powyżej 20% w próbie IVm i powyżej 12% w próbach Im i Id. *Malassezia* sp. dominowała w próbie IVm (ponad 30% udziału), natomiast w próbie Im dominowały patogeny *Pleurophoma* sp. (ponad 25%). Grzyby należące do *Cephalothecaceae* sp. dominowały w próbie IVd, a *Microbotryomycetes* sp. w próbie IIId (w obu przypadkach ponad 18%). Zbiorowisko w próbie IIIm zdominowały grzyby z rodzaju *Diaporthe* (powyżej 17%), a następnie *Mycena* i saprotrofy *Dictyochoeta* (ponad 13%) (tab. 1).

Największą bioróżnorodnością charakteryzowały się pniaki czeremchy ścinane latem (tab. 2). W próbie Im oraz IVm indeks zróżnicowania Margalefa osiągnął blisko połowę mniejsze wartości niż indeks wyliczony dla pozostałych prób w tych porach roku. Najbardziej bioróżnorodną populacją charakteryzowało się zbiorowisko grzybów w próbie IIIId, natomiast w przypadku pniaków powstałych latem indeks Shannona osiągał wartości ponad 3,32.

## Dyskusja

Zbiorowiska grzybów zasiedlających pniaki czeremchy amerykańskiej różniły się między sobą. Zbiorowisko grzybów większych pniaków było bardziej różnorodne i liczne niż pniaków o mniejszej średnicy. Różnicy pomiędzy liczebnością i różnorodnością taksonów nie stwierdzono w przypadku pniaków ścinanych latem. Większą różnorodnością taksonów wyróżniały się zbiorowiska grzybów pniaków drzew ścinanych w sezonie wegetacyjnym. W zbiorowisku dominowały grzyby

Tabela 2.

Współczynniki różnorodności zbiorowisk grzybów zasiedlających pniaki czeremchy amerykańskiej  
Diversity indices of the fungal communities inhabiting the black cherry tree stumps

|      | IKm   | IKd   | IIKm  | IIKd  | IIIKm | IIIKd | IVKm  | IVKd  |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| D-Mg | 15,26 | 34,99 | 31,30 | 31,49 | 23,85 | 37,08 | 13,98 | 32,76 |
| H    | 2,48  | 3,56  | 3,34  | 3,32  | 2,20  | 3,58  | 2,12  | 3,43  |
| E    | 0,52  | 0,62  | 0,59  | 0,58  | 0,41  | 0,61  | 0,47  | 0,59  |
| D    | 0,14  | 0,07  | 0,07  | 0,07  | 0,27  | 0,09  | 0,19  | 0,07  |
| d    | 0,25  | 0,16  | 0,17  | 0,19  | 0,49  | 0,11  | 0,20  | 0,102 |

rozkładające drewno. W zbiorowisku grzybów w większości analizowanych prób dominowały grzyby gromady Ascomycota, co jest zgodne z wcześniejszymi doniesieniami dotyczącymi drzew liściastych [Gutowski i in. 2004; Kwaśna i in. 2016]. Udział gromady Ascomycota w zbiorowisku ulegał zmianie w kolejnych porach roku. Zimą dominowały grzyby gromady Basidiomycota. Dominacja Ascomycota w zbiorowisku grzybów martwego drewna jest związana z postępującym stopniem jego rozkładu. Im wcześniejsze stadium rozkładu, tym większy udział Ascomycota [Rajala i in. 2011, 2012, 2015; Kubartová i in. 2012; Ovaskainen i in. 2013]. Grzyby gromady Ascomycota powodują powolny, powierzchniowy rozkład drewna w okresach zwiększonej wilgotności. Okresy suszy i okresy wilgotne, które pojawiają się naprzemiennie, sprzyjają głębszej penetracji grzybni i doprowadzają do rozległego rozkładu drewna [Eaton, Hale 1993]. Stąd potwierdzono zmiany zachodzące w badanych zbiorowiskach grzybów, które następowały w kolejnych porach roku oraz różniły się między sobą w zależności od średnicy pniaków czeremchy.

Taksonem, który najczęściej występował w próbie IIId, był *Menispora* sp. (blisko 50%), który w pozostałych próbach miał nieznaczny udział bądź nie występował w ogóle. Grzyby tego rodzaju związane są z martwym drewnem [Réblová, Seifert 2007]. Taksonem, który najczęściej występował w próbie Im (ponad 25%) i w niewielkim udziale w pozostałych pniakach, poza próbą IVm, był *Pleurophoma ossicola*. De Gruyter i in. [2010] przypisują mu funkcję patogenu. Grzybówki *Mycena* sp. były taksonami często identyfikowanymi w próbie Id (ponad 6%) i IId (ponad 13%). W próbie IIm nie potwierdzono ich obecności. Udział tego taksonu w zbiorowisku grzybów malał wraz ze zmniejszającą się średnicą pniaków i zmianami pór roku. Grzybom należącym do tego rodzaju przypisuje się rolę saprotrofów, z wyjątkiem *M. citricolor* (Ber. & Curt.) Sacc, który jest opisywany jako patogen [Singer 1986]. Grzyby rodzaju *Mycena* związane są z martwym drewnem, korą żywych drzew, glebą, rzadziej z rozkładającymi się paprociami, trawami czy innymi roślinami zielnymi i mchami [Perry 2002]. *Penicillium* sp., którego frekwencja w próbie Id wynosiła ponad 5%, zalicza się do antagonistów w stosunku do korzeniowców i opieńiek. Był to takson wspólny dla wszystkich analizowanych zbiorowisk. Do tego rodzaju zalicza się zidentyfikowany w zbiorowisku *P. bialowiezense*, izolowany z gleby leśnej i z kłód martwego drewna [Scott i in. 2008]. W próbie IId licznie (ponad 13%) występowały grzyby rodzaju *Dictyochaeta*. Ich udział w pozostałych próbach był znikomy bądź w ogóle nie stwierdzano ich obecności. Gatunki rodzaju *Dictyochaeta* uczestniczą w dekompozycji martwego materiału roślinnego w glebie [Cruz i in. 2008]. W próbie IIm liczny udział miały grzyby rodzaju *Phialocephala*. Gatunki należące do tego rodzaju izolowano z kory żywych gałęzi drzew [Kowalski, Kehr 1995]. Rodzaj *Malassezia*, w którym występują liczne organizmy patogeniczne [Saunders i in. 2012], dominował w próbie IVm (ponad 30%). Grzyby należące do *Cephalothecaceae* sp. – saprotrofy związane m.in. z rozkładającym się drewnem [Cannon, Kirk 2007] – dominowały w próbach IVd (ponad 18%). Zbiorowisko grzybów w próbie IIm zdomi-

nowały grzyby z rodzaju *Diaporthe* (powyżej 17%), wśród których wyróżnia się patogeny, endofity oraz saprotrofy [Gomes i in. 2013].

W zbiorowisku grzybów zasiedlających pniaki czeremchy zidentyfikowano metodami molekularnymi w korzeniach czeremch gatunki rodzaju *Mycena* – podobnie jak Kwaśna i in. [2008]. Zidentyfikowano nieliczną grupę grzybów należących *Fusarium*, *Humicola* sp., *Sporothrix* sp. i *Trichoderma* – również podobnie jak Kwaśna i in. [2008], którzy za pomocą metod klasycznych identyfikowali wyżej wymienione organizmy w korzeniach czeremchy amerykańskiej. W drewnie pniaków wszystkich czeremch, tak jak w badaniach Kwaśnej i in. [2008], identyfikowano także grzyby z rodzaju *Penicillium*. Zbiorowiska grzybów korzeni czeremchy amerykańskiej i jej pniaków nie pokrywały się ze sobą, ze względu na różnice w analizowanym materiale, jak i ze względu na wykorzystane do identyfikacji zbiorowisk metody. W Kampinoskim Parku Narodowym obserwowano występowanie na czeremchach *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. anamorph [Marciszewska i in. 2018], w przypadku pniaków zidentyfikowano niewielki udział Nectriaceae. W Kampinoskim Parku Narodowym na leżaninie, gałęziach i drzewach czeremchy obserwowano występowanie *Laetiporus sulphureus* [Marciszewska i in. 2018], natomiast w przypadku niniejszych badań gatunek ten wykazywał 3,73% udziału w próbie Id, a w pozostałych próbach jego udział był znikomy bądź w ogóle go nie stwierdzono. Marciszewska i in. [2018] identyfikowali także *Tremella mesenterica* Retz – w niniejszych badaniach również zidentyfikowano w zbiorowisku niewielki udział rodzaju *Tremella*.

Dominujący udział grzybów związanych z rozkładem drewna świadczy o przebiegającym w pniakach procesie dekompozycji, jednak dotąd nieznane jest tempo rozkładu drewna czeremchy przez zidentyfikowane taksony. Należałoby podjąć dalsze badania dotyczące wpływu pory roku na zbiorowisko grzybów pniaków czeremchy. Najbardziej pożądanym efektem badań zbiorowisk grzybów zasiedlających pniaki czeremchy byłoby wskazanie naturalnie występujących saprotrofów, których działanie ograniczyłoby siłę odroślową czeremchy. Badania związane z sukcesją grzybów należałoby kontynuować wraz z postępującym rozkładem pniaków. Ze względu na powyższe wyniki badań uzasadnione jest podjęcie dalszych analiz związanych z powyższym zagadnieniem, zwłaszcza w kontekście grzybów związanych z rozkładem martwego drewna, których udział w zbiorowisku był znaczący, jak *Menispora* sp. czy *Dictyochaeta* sp. Dalsze badania mogłyby wskazać ich potencjał w ograniczaniu występowania czeremchy amerykańskiej.

Zastosowana metoda sekwencjonowania w oparciu o System Illumina umożliwiła identyfikację większości grzybów na poziomie rodzaju lub gatunku, co potwierdza jej skuteczność przy określaniu składu zbiorowiska grzybów.

## Podsumowanie

Większe pniaki czeremchy oraz pniaki ścinane latem miały bardziej zróżnicowany skład gatunkowy niż mniejsze pniaki oraz pniaki ścinane w pozostałych porach roku i dominowały w nich saprotrofy. Uzasadnione byłoby podjęcie dalszych badań związanych z gatunkiem *Pleurophoma ossicola*, którego udział w pniakach czeremchy był znaczny, a jego ekologia i funkcja w środowisku leśnym dotąd nie została do końca dobrze rozpoznana. W zbiorowisku grzybów pniaków czeremchy nie stwierdzono występowania ważnych gospodarczo patogenów – *Armillaria* spp. oraz *Heterobasidion* spp. Rozpoznanie roli i funkcji poszczególnych komponentów zbiorowiska grzybów zasiedlających pniaki może stanowić ceną wskazówkę w integrowanej ochronie roślin oraz zwalczaniu bądź ograniczaniu występowania czeremchy amerykańskiej na niepożądanych stanowiskach poza granicami jej naturalnego występowania. Powyższe badania stanowią wstęp

do analizy zmienności struktury wyżej wymienionego zbiorowiska oraz będą wiązały się z kolejnymi badaniami nad bioherbicydami mającymi służyć do walki z populacją czeremchy amerykańskiej.

## Literatura

- Cannon P. F., Kirk P. M. 2007. Fungal Families of the World. CAB International, Wallingford. 56-57.
- Cruz A. C. R., Leão-Ferreira S. M., Barbosa F. R., Gusmão L. F. P. 2008. Conidial fungi from semi-arid Caatinga biome of Brazil. New and interesting *Dictyochoaeta* species. Mycotaxon 106: 15-27.
- Eaton R. A., Hale M. D. C. 1993. Wood: decay, pests and protection. Chapman & Hall, London, UK.
- Głowacka B. [red.]. 2014. Środki ochrony roślin, środki biobójcze oraz produkty do rozkładu pni drzew leśnych zalecane do stosowania w leśnictwie w roku 2015. IBL Analizy i Raporty 23: 74.
- Gomes R. R., Glienke C., Videira S. I. R., Lombard L., Groenewald J. Z., Crous P. W. 2013. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. Persoonia 31: 1-41. DOI: <https://doi.org/10.3767/003158513X666844>.
- de Gruyter J., Woudenberg J. H. C., Aveskamp M. M. 2010. Systematic reappraisal of species in *Phoma* section *Paraphoma*, *Pyrenochaeta* and *Pleurophoma*. Mycologia 102: 1066-1081.
- Gutowski J. M., Bobiec A., Pawlaczyk P., Zub K. B. 2004. Drugie życie drzew. WWF, Warszawa – Hajnówka.
- Hunter M. L. Jr. 1990. Wildlife, Forests and Forestry: Principles of managing forests for biological diversity. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA.
- de Jong M. D. 2000. The BioChon story: deployment of *Chondrostereum purpureum* to suppress stump sprouting in hardwoods. Mycologist 14 (2): 58-62.
- Juhász M. 2008. Black cherry (*Prunus serotina* Ehrh.). W: Botta-Dukát Z., Balogh L. [red.]. The most important invasive plants in Hungary.
- Kowalski T., Kehr R. D. 1995. Two new species of *Phialocephala* occurring on *Picea* and *Alnus*. Can. J. Bot. 73: 26-32.
- Kubartová A., Ottosson E., Dahlberg A., Stenlid J. 2012. Patterns of fungal communities among and within decaying logs, revealed by 454 sequencing. Molecular Ecology 21: 4514-4532. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05723.x>.
- Kwasieña H., Bateman G. L., Ward E. 2008. Determining species diversity of microfungal communities in forest tree roots by pure-culture isolation and DNA sequencing. Applied Soil Ecology 40 (1): 44-56.
- Kwasieña H., Mazur A., Łabędzki A., Kuźmiński R., Łakomy P. 2016. Communities of fungi in decomposed wood of oak and pine. Leś. Pr. Bad. 77 (3): 261-275. DOI: <https://doi.org/10.1515-frp-2016-0028>.
- Magurran A. E. 1988. Ecological Diversity and Its Measurement. Croom Helm, London.
- Marciszewska K., Szczepkowski A., Otręba A., Oktaba L., Kondras M., Zaniewski P., Czurzycki W., Wojtan R. 2018. The dynamics of sprouts generation and colonization by macrofungi of black cherry *Prunus serotina* Ehrh. eliminated mechanically in the Kampinos National Park. Folia Forestalia Polonica A, Forestry 60 (1): 34-51. DOI: <https://doi.org/10.2478/ffp-2018-0004>.
- Najberek K., Solarz W. 2011. Inwazje biologiczne w polskich parkach narodowych i krajobrazowych. W: Głowaciński Z., Okarma H., Pawłowski J., Solarz W. [red.]. Gatunki obce w faunie Polski. Wyd. internetowe. Instytut Ochrony Przyrody PAN w Krakowie. 624-639.
- Namura-Ochalska A. 2012. Walka z czeremchą amerykańską *Padus serotina*. Ocena skuteczności wybranych metod w Kampinoskim Parku Narodowym. Studia i Materiały CEPL 33: 190-200.
- Namura-Ochalska A., Borowa B. 2015. Walka z czeremchą amerykańską *Padus serotina* (Ehrh.) Borkh. w leśnictwie Różin w Kampinoskim Parku Narodowym. Ocena skuteczności wybranych metod. W: Krzysztofiak L., Krzysztofiak A. [red.]. Zwalczanie inwazyjnych gatunków roślin obcego pochodzenia – dobre i złe doświadczenia. Stowarzyszenie Człowiek i Przyroda. 57-72.
- Otręba A. 2016. Wprowadzenie. W: Obidziński A., Kołaczowska E., Otręba A. [red.]. Metody zwalczania obcych gatunków roślin występujących na terenie Puszczy Kampinoskiej. Kampinoski Park Narodowy, Izabelin.
- Ovaskainen O., Schigel D., Ali-Kovero H., Auvinen P., Paulin L., Norden B., Norden J. 2013. Combining high-throughput sequencing with fruit body surveys reveals contrasting life-history strategies in fungi. International Society for Microbial Ecology Journal 7 (9): 1696-1709. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.61>.
- Perry B. A. 2002. A taxonomic investigation of *Mycena* in California. M.S. Thesis, San Francisco State University, San Francisco.
- Rajala T., Peltoniemi M., Hantula J., Mäkipää R., Pennanen T. 2011. RNA reveals a succession of active fungi during the decay of Norway spruce logs. Fungal Ecology 4: 437-448. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2011.05.005>.
- Rajala T., Peltoniemi M., Pennanen T., Mäkipää R. 2012. Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) logs in boreal forests. FEMS Microbiology Ecology 81: 494-505. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01376.x>.
- Rajala T., Tuomivirta T., Pennanen T., Mäkipää R. 2015. Habitat models of wood inhabiting fungi along a decay gradient of Norway spruce logs. Fungal Ecology 18: 48-55. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.08.007>.

- Réblová M., Seifert K. A. 2007.** A new fungal genus, *Teracosphaeria*, with a phialophora-like anamorph (Sordariomycetes, Ascomycota). Mycol Res. 111 (3): 287-98. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.12.005>.
- Roy V., Dubeau D., Auger I. 2010.** Biological control of intolerant hardwood competition: Silvicultural efficacy of *Chondrostereum purpureum* and worker productivity in conifer plantations. Forest Ecology and Management 259: 1571-1579.
- Saunders Ch. W., Scheynius A., Heitman J. 2012.** *Malassezia* Fungi Are Specialized to Live on Skin and Associated with Dandruff, Eczema, and Other Skin Diseases. PLoS Pathog. 8 (6): e1002701.
- Schmidt P.-A., Bálint M., Greshake B., Bandow C., Römbke J., Schmitt I. 2013.** Illumina metabarcoding of a soil fungal community. Soil Biology & Biochemistry 65: 128-132.
- Scott J. A., Wong B., Summerbell R. C., Untereiner W. A. 2008.** A survey of *Penicillium brevicompactum* and *P. bialowiezense* from indoor environments, with commentary on the taxonomy of the *P. brevicompactum* group. Botany 86: 732-741. 41. DOI: <https://doi.org/10.1139/B08-060>.
- Singer R. 1986.** The Agaricales in modern taxonomy. 4<sup>th</sup> ed. Koeltz Scientific Books, Koenigstein.
- Starfinger U., Kowarik I., Rode M., Schepker H. 2003.** From desirable ornamental plant to pest to accepted additional to the flora? – The perception of alien tree species through the centuries. Biological Invasions 5: 323-335.
- Tittenbrun A., Radliński B. 2015.** Praktyka zwalczania inwazyjnych gatunków obcych w Roztoczańskim Parku Narodowym. W: Krzysztofiak L., Krzysztofiak A. [red.]. Zwalczanie inwazyjnych gatunków roślin obcego pochodzenia – dobre i złe doświadczenia. Stowarzyszenie Człowiek i Przyroda. 49-54.
- Van den Meersschaut D., Lust N. 1997.** Comparison of mechanical, biological and chemical methods for controlling black cherry (*Prunus serotina*) in Flanders (Belgium). Silva Gandavensis 62: 90-109.
- White T. J., Bruns T., Lee S. J. W. T., Taylor J. W. 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. W: Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J. [red.]. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, Inc., New York, New York. 315-322.