

PROGRAM WARSZTATÓW

23 września (wtorek)
16⁰⁰-19⁰⁰ zwiedzanie Łodzi,
piesza wycieczka z przewodnikiem PTTK

PROGRAM RAMOWY			
Dzień 1 24. 09 (środa) ŁÓDŹ wydział BiOŚ UŁ	9 ⁰⁰ -9 ¹⁰ Uroczyste otwarcie		
	9 ¹⁰ -14 ⁰⁰ Sesja plenarna I MYKOLOGIA W POLSCE I NA ŚWIECIE: KORZENIE, WSPÓŁCZESNOŚĆ, INTERDYSCYPLINARNOŚĆ (AULA, GMACH D)		
	14 ⁰⁰ -15 ⁰⁰ obiad (OGRÓD ZIMOWY W GMACHU D)		
	15 ⁰⁰ -17 ⁵⁵ Sesja plenarna II NAUCZANIE MYKOLOGII: KIERUNKI, PROBLEMY, POTRZEBY (AULA, GMACH D)		
	17 ⁵⁵ -18 ³⁰ Debata nad Memorandum w sprawie NAUCZANIA MYKOLOGII W POLSCE (AULA, GMACH D)		
	18 ⁴⁰ -19 ²⁰ Walne Zgromadzenie członków PTMyk (AULA, GMACH D)		
	19 ³⁰ wyjazd do Spały (autokar)		
dzień 2 25. 09 (czwartek) SPAŁA	8 ⁰⁰ -11 ⁰⁰ Warsztaty I cz. 1 <i>Grzyby hydrosfery</i>	9 ⁰⁰ -10 ⁴⁵ Walne Zgromadzenia istniejących i tworzonych Sekcji PTMyk	9 ⁰⁰ -10 ⁴⁵ zwiedzanie Spały z przewodnikiem (zbiórka pod Hotelem Mościcki)
	11 ⁰⁰ -13 ²⁰ Sesja I: EKOLOGIA GRZYBÓW I ORGANIZMÓW GRZYBOPODOBNYCH		
	13 ⁴⁰ -15 ²⁰ Sesja II: BIOLOGIA KOMÓRKI, FIZJOLOGIA I BIOCHEMIA GRZYBÓW		
	15 ²⁰ -16 ²⁰ obiad		
	16 ²⁰ -18 ²⁰ Sesja III: GRZYBY W OCHRONIE ZDROWIA, ŚRODOWISKA I W PRZEMYSŁE		
	18 ⁴⁰ -19 ³⁰ Sesja posterowa (HOL STACJI TERENOWEJ UŁ)		
	20 ³⁰ uroczysta kolacja		

dzień 3 26. 09 (piątek) ŁÓDŹ / SPAŁA	9 ³⁰ -16 ³⁰ Warsztaty II <i>Micromycetes w ochronie środowiska</i> (obiad ok. 14 ⁰⁰) 8 ⁰⁰ wyjazd do Łodzi, ok. 18 ⁰⁰ powrót do Spały	8 ⁰⁰ -11 ³⁰ Warsztaty III <i>Polskie macromycetes Gasteromycetes</i>	9 ⁰⁰ -10 ²⁰ Sesja IV: PASOŻYTY, PATOGENY I ICH KONTROLA	8 ³⁰ -11 ³⁰ grupa A 11 ³⁰ - 14 ³⁰ grupa B Sesja terenowa I (grąd, rez. Spała; świetlista dąbrowa, rez., Konewka)
		11 ⁴⁵ -15 ⁰⁰ Warsztaty IV <i>Polskie micromycetes: Grzyby owadobójcze</i>	10 ²⁰ -12 ²⁰ Sesja V: SYSTEMATYKA I EWOLUCJA GRZYBÓW I ORGANIZMÓW GRZYBOPODOBNYCH	
			12 ⁴⁰ -14 ⁴⁰ Sesja VI: SYMBIOZY BADANIA PODSTAWOWE I APLIKACYJNE	
	14 ⁴⁰ -15 ⁴⁰ obiad			
	15 ⁴⁰ -17 ⁴⁰ Sesja VII: GRZYBY W GOSPODARCE LEŚNEJ, ROLNICTWIE, OGRODNICTWIE I ZRÓWNOWAŻONYM ROZWOJU			
18 ⁰⁰ -20 ⁰⁰ Sesja VIII: BIORÓŻNORODNOŚĆ I OCHRONA GRZYBÓW, ROLA GRZYBÓW W MONITORINGU I OCHRONIE ŚRODOWISKA				
dzień 4 27. 09 (sobota) SPAŁA	8 ⁰⁰ -11 ⁰⁰ Warsztaty I cz. 2 <i>Grzyby hydrosfery</i>		9 ⁰⁰ -12 ³⁰ Sesja terenowa II (grąd, rez. Spała; świetlista dąbrowa, rez. Konewka)	9 ⁰⁰ -17 ³⁰ oznaczanie, dyskusje, wymiana wiedzy
	11 ³⁰ -14 ³⁰ Warsztaty V <i>Fungal Conservation – Red Listing, Communicating, Taking Action</i>		12 ³⁰ -15 ⁰⁰ Sesja terenowa II (torfowisko, rez. Gać Spalska)	
	15 ⁰⁰ -16 ⁰⁰ przerwa obiadowa			
	ok. 17 ³⁰ wyjazd do Ośrodka Lasów Państwowych w Smardzewicach, od ok. 18 ⁰⁰ – spotkanie przy ognisku			
	dzień 5 28. 09 (niedziela) SPAŁA	9 ⁰⁰ -12 ³⁰ grupa A 12 ³⁰ -14 ³⁰ grupa B		9 ⁰⁰ -14 ⁰⁰ Warsztaty <i>Grzyby hydrosfery dla Fykologów</i>
14 ³⁰ -15 ³⁰ przerwa obiadowa				
15 ³⁰ -do wieczora oznaczanie, dyskusje, wymiana wiedzy				

PROGRAM SZCZEGÓŁOWY

24 września, środa

AULA, budynek D BiOŚ, ul. Pomorska 146-149, ŁÓDŹ

9⁰⁰- 9¹⁰ otwarcie konferencji

**9¹⁰-14⁰⁰ sesja plenarna I: MYKOLOGIA W POLSCE I NA ŚWIECIE:
KORZENIE, WSPÓŁCZESNOŚĆ, INTERDYSCYPLINARNOŚĆ**

prowadzący Maria Ławrynowicz i Andrzej Grzywacz

9¹⁰-9⁴⁰ Rzut oka na dzieje badań grzybów kapeluszkowych w Polsce
Tomasz Majewski

9⁴⁰-10¹⁰ Challenges and opportunities for fungal conservation
Gregory Mueller

10¹⁰-10⁴⁰ Zróżnicowanie zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych: od pierwszych opisów mykoryz przez Kamińskiego i Franka do ery badań molekularnych
Maria Rudawska, Tomasz Leski, Marcin Pietras, Leszek Karliński

10⁴⁰-11¹⁰ Rola mykologii w medycynie
Maria Dynowska

11¹⁰-11³⁰ przerwa kawowa

11³⁰-12⁰⁰ Historia oraz obecne kierunki i perspektywy badań grzybów chorobotwórczych dla roślin w Polsce
Małgorzata Mańka

12⁰⁰-12³⁰ Złożone oblicza grzybów mikroskopijnych wykorzystywanych przez człowieka
Jerzy Długoński

12³⁰-13⁰⁰ Aeromykologia: badania grzybów w aeroplanktonie
Małgorzata Jędrzycka

13⁰⁰-13³⁰ Grzyby termooporne – znaczenie, charakterystyka, perspektywy badań
Magdalena Frąc

13³⁰-14⁰⁰ Ekologia grzybów z perspektywy genomu, genetyka w erze genomowej
Anna Muszewska

14⁰⁰-15⁰⁰ obiad

**15⁰⁰-17⁵⁵ sesja plenarna II: NAUCZANIE MYKOLOGII: PROBLEMY,
KIERUNKI, POTRZEBY**

prowadzący **Maria Lisiewska i Wiesław Mulenko**

15⁰⁰-15³⁰ Wartości odżywcze i lecznicze grzybów: spojrzenie na składniki mineralne

Jerzy Falandysz

15³⁰-16⁰⁰ Grzyby zagrożeniem dla zdrowia i życia ludzi

Piotr Kurnatowski

16⁰⁰-16³⁰ Grzyby halucynogenne – okiem neurofizjologa

Marek Wieczorek

16³⁰-17⁰⁰ Korozja biologiczna powodowana przez grzyby

Beata Gutarowska

17⁰⁰-17²⁰ przerwa kawowa

17²⁰-17⁴⁰ Problemy nauczania mykologii na uniwersyteckich studiach przyrodniczych

Mulenko Wiesław

17⁴⁰-17⁵⁵ Wyniki ankiety PTMyk dotyczącej kształcenia mykologicznego na uczelniach wyższych w Polsce

Julia Pawłowska

17⁵⁵-18³⁰ Debata nad *Memorandum w sprawie nauczania Mykologii w Polsce* i powołanie kierunkowych zespołów roboczych
moderatorzy: *Maria Dynowska, Maria Ławrynowicz, Jerzy Chelkowski i Wiesław Mulenko*

18⁴⁰-19²⁰ Walne Zgromadzenie członków PTMyk

19³⁰ **wyjazd** uczestników do Spały (**autokar**)
zbiórka pod gmachem A BiOŚ, ul. Banacha 12/16

25 września, czwartek

**AULA, Przyrodnicza Stacja Terenowa BiOŚ, ul. Wojciechowskiego,
SPAŁA**

**11⁰⁰-13²⁰ sesja tematyczna I: EKOLOGIA GRZYBÓW I ORGANIZMÓW
GRZYBOPODOBNYCH**

sesja dedykowana prof. Marii Lisiewskiej i prof. Annie Bujakiewicz

prowadzący Małgorzata Stasińska i Piotr Mleczo

- 11⁰⁰-11²⁰ Przedstawienie sylwetek naukowych prof. Marii Lisiewskiej i prof. Anny Bujakiewicz
Małgorzata Stasińska i Anna Kujawa
- 11²⁰-11⁴⁰ **wykład wiodący:** Problemy ekologicznych badań mikroskopijnych grzybów pasożytniczych
Monika Kozłowska i Wiesław Mulenko
- 11⁴⁰-12⁰⁰ Grzyby i rośliny: osobliwe relacje
Anna Bujakiewicz
- 12⁰⁰-12²⁰ Różnorodność gatunkowa macromycetes na odłogach stref otaczających parki krajobrazowe w woj. łódzkim
Jolanta Adamczyk
- 12²⁰-12⁴⁰ Grzyby brioofilne w zbiorowiskach torfowiskowych Polski Środkowej
Barbara Grzesiak
- 12⁴⁰-13⁰⁰ Grzyby wielkoowocnikowe siedlisk leśnych Parku nad Starym Kanalem Bydgoskim
Natalia Stokłosa, Izabela Kauwa, Justyna Nowakowska i Barbara Kieliszewska-Rokicka
- 13⁰⁰-13²⁰ Żerowanie małych ssaków na grzybach podziemnych
Małgorzata Połatyńska

13²⁰-13⁴⁰ przerwa kawowa

**13⁴⁰-15²⁰ sesja tematyczna II: BIOLOGIA KOMÓRKI, FIZJOLOGIA I
BIOCHEMIA GRZYBÓW**

prowadzący Barbara Kieliszewska-Rokicka i Krzysztof Grzywnowicz

- 13⁴⁰-14⁰⁰ **wykład wiodący:** Modyfikacje genetyczne prowadzące do poprawy walorów użytkowych grzybów
Joanna S. Kruszewska
- 14⁰⁰-14²⁰ Analiza aktywnych biologicznie metabolitów wtórnych w ekstraktach z owocników krajowych gatunków grzybów poliporoidalnych
Katarzyna Sulkowska-Ziaja i Bożena Muszyńska
- 14²⁰-14⁴⁰ Grzyby i ich aromaty
Ewa Moliszewska

- 14⁴⁰-15⁰⁰ Synergizm znanych i potencjalnie nowych leków w zwalczaniu wielolekowej oporności u *Candida albicans*
Joanna Szczepaniak i Anna Krasowska
- 15⁰⁰-15²⁰ Zróżnicowanie fizjologiczne ektomykoryz – ocena na podstawie aktywności enzymatycznej
Barbara Kieliszewska-Rokicka i Anna Frymark-Szymkowiak

15²⁰-16²⁰ obiad

16²⁰-18²⁰ sesja tematyczna III: GRZYBY W OCHRONIE ZDROWIA, ŚRODOWISKA I W PRZEMYŚLE

prowadzący **Ewa Moliszewska i Jerzy Długoński**

- 16²⁰-16⁴⁰ **wykład wiodący:** Biotechnologia grzybów wyższych – stan obecny i perspektywy
Jadwiga Turło
- 16⁴⁰-17⁰⁰ Wpływ związków cynoorganicznych na błony grzybów mikroskopowych
Przemysław Bernat, Paulina Siewiera i Jerzy Długoński
- 17⁰⁰-17²⁰ Degradacja 4-n-nonylofenolu przez *Metarhizium robertsii*
Różalska Sylwia, Adrian Soboń i Jerzy Długoński
- 17²⁰-17⁴⁰ Mechanizmy wiązania cynku i ołowiu przez grzyb strzępkowy *Paecilomyces marquandii* w czasie wzrostu na bogatym podłożu i w warunkach głodowych
Mirosława Słaba i Jerzy Długoński
- 17⁴⁰-18⁰⁰ Właściwości prozdrowotne grzybów jadalnych
Bożena Muszyńska i Katarzyna Sulkowska-Ziaja
- 18⁰⁰-18²⁰ Grzyby potencjalnie chorobotwórcze w ziemi oraz piasku parków, boisk i piaskownic
Katarzyna Góralska, Piotr Kurnatowski, Joanna Błaszewska i Anna Wójcik

18²⁰-18⁴⁰ przerwa kawowa

18⁴⁰-19³⁰ sesja posterowa

1. Mikromacierze fenotypowe w ocenie uzdolnień do wykorzystania azotu przez szczepy *Neosartorya fischeri* – *Nina Bilińska-Wielgus, Magdalena Frąc, Agata Gryta i Karolina Oszust*
2. Zmiany w hydrofobowości i adhezji *Candida albicans* pod wpływem biosurfaktantów – *Piotr Biniarz, Gabriela Baranowska i Anna Krasowska*
3. Sezonowe, ilościowe oraz gatunkowe zróżnicowanie mykoplanktonu w wodach Kanału Augustowskiego – *Adam Cudowski, Anna Pietryczuk, Adam Więcko i Andrzej Górniak*
4. Grzyby patogenne izolowane od zwierząt, ich właścicieli i środowiska –

- Iwona Dąbrowska, Bożena Dworecka-Kaszak i Małgorzata Biegańska*
5. Badania nad występowaniem sztucznych ($^{134/137}\text{Cs}$) i naturalnych radionuklidów (^{40}K , ^{226}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb) w pieprzniku jadalnym – *Małgorzata Drewnowska, Patrycja Krogul, Anna Śliwińska, Tamara Zalewska i Jerzy Falandysz*
 6. Radiocez (^{137}Cs) i potas (^{40}K) w maślaku zwyczajnym – *Anna Dryżałowska, Natalia Szyłke, Tamara Zalewska, Anna Śliwińska i Jerzy Falandysz*
 7. Pierwiastki promieniotwórcze (^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{40}K , ^{226}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb) w grzybie płachetka kołpakowata *Cortinarius caperatus* – *Jerzy Falandysz i Tamara Zalewska*
 8. Wpływ porażenia przez rdzę brunatną *Puccinia recondita* f. sp. *secalis* na ilość i jakość plonu żyta ozimego – *Karolina Felczak, Małgorzata Schollenberger i Wojciech Wakuliński*
 9. Produkcja korzeni drobnych i stan mykoryzy topoli białej (*Populus alba* L.) w zbiorowiskach leśnych, w dorzeczu Dolnej Wisły – *Anna Frymark-Szymkowiak, Natalia Stokłosa i Barbara Kieliszewska-Rokicka*
 10. Woda jako rezerwuuar diaspor grzybów lądowych – *Michał Gorczak i Marta Wrzosek*
 11. Manipulacja aktywnością szlaku mewalonowego a właściwości przeciwgrzybowe *Trichoderma atroviride* – *Sebastian Graczyk, Urszula Perlińska-Lenart, Wioletta Górka-Nieć, Patrycja Zembek, Sebastian Piłsyk i Joanna S. Kruszewska*
 12. Wpływ bakterii promujących wzrost roślin (PGPB) na rozwój grzybów fitopatogennych – *Anna Grobelak, Anna Naporę i Małgorzata Kacprzak*
 13. Wykorzystanie źródeł węgla przez szczep *Trichoderma* wyizolowany z osadu ścieków mleczarskich – *Agata Gryta, Magdalena Frąc, Karolina Oszust, Anna Siczek i Nina Bilińska*
 14. Wpływ metali ciężkich na proces kiełkowania zarodników grzybów z rodzaju *Metarhizium* – *Marta Gryzłó, Anna Różycka, Sylwia Różalska, Mirosława Słaba i Jerzy Długoński*
 15. Charakterystyka wzrostu nowo wyizolowanego szczepu grzyba owadobójczego z rodzaju *Gibellula* na różnych podłożach mikrobiologicznych – *Jakub Grzeszczuk, Jerzy Piątkowski i Elżbieta Pląskowska*
 16. Lichenologia w kontekście różnorodnych badań prowadzonych w ogrodach botanicznych Polski – *Mariusz Hachulka i Jolanta Szczepańska*
 17. Czynniki warunkujące przebieg procesu płciowego u grzybów z rodzaju *Fusarium* sp. sekcji *Liseola* – *Emilia Jabłońska, Wojciech Wakuliński i Marcin Wit*
 18. Muchomor sromotnikowy *Amanita phalloides* jako przyczyna ciężkich i

- śmiertelnych zatruc pokarmowych – *Przemysław Jaksa i Izabela Kałucka*
19. Analiza zdolności wybranych grzybów strzępkowych do eliminacji technicznego nonylofenolu ze środowiska – *Tomasz Janicki, Mariusz Krupiński i Jerzy Długoński*
20. Eliminacja barwników syntetycznych z wykorzystaniem systemu „adsorpcja-biodegradacja” – *Anna Jasińska, Katarzyna Paraszkiewicz i Jerzy Długoński*
21. Zanieczyszczenie rțcią maślaka sitarza (*Suillus bovinus*) i jego podłoŝa glebowego – ocena zdolności bionagromadzania oraz ryzyka spoŝywania – *Gabriela Jurkiewicz, Innocent C. Nnorom i Jerzy Falandysz*
22. Grzyby na targach okolic Rzeszowa – *Renata Kasper-Pakosz i Łukasz Łuczaj*
23. Wymiar fraktalny D, jako miara fragmentacji populacji gatunków grzybów – *Kamil Kędra*
24. Znaczenie grzybów i organizmów grzybopodobnych dla ekosystemów wodnych – *Boŝena Kiziewicz, Anna Godlewska i Elŝbieta Muszyńska*
25. Eliminacja naturalnych estrogenów przez grzyby mikroskopowe – *Kamila Kowalczyk, Magda Abu Aitah, Przemysław Bernat i Jerzy Długoński*
26. Micromycetes na liściach róż pnących *Rosa L.* w Ogrodzie Botanicznym Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie – *Maria Kowalik i Klaudia Duda*
27. Zanieczyszczenie owocników i bionagromadzanie rțci przez grzyba *Macrocybe gigantea* – *Graŝyna Krasieńska, Anna Wiejak, Ji Zhang, Yuanzhong Wang i Jerzy Falandysz*
28. Rțć w maślaku pstrym i maślaku ziarnistym oraz w ich podłoŝu glebowym – *Patrycja Krogul, Innocent C. Nnorom i Jerzy Falandysz*
29. Eliminacja alachloru przez grzyby strzępkowe z rodzaju *Trichoderma* w obecności metali cięŝkich – *Katarzyna Lis, Martyna Krzemińska, Adrian Soboń, Milena Piątek, Mirosława Słaba i Jerzy Długoński*
30. Aktywność biochemiczna wybranych peryfitonowych Oomycetes – *Kinga Mazurkiewicz-Zapałowicz i Maria Wolska*
31. Analiza zbiorowisk ektomykoryz dębika ośmiopłatkowego *Dryas octopetala L.* w populacjach wysokogórskich oraz reliktowych populacjach reglaowych w Karpatach – *Piotr Mleczko, Anna Ronikier i Michał Ronikier*
32. Akumulacja gamma-radionuklidów w owocnikach *Pleurotus ostreatus* jako potencjalny indyktor zanieczyszczeń środowiska – *Ewa Moliszewska, Agnieszka Dolhańczuk-Śródka i Zbigniew Ziembik*
33. Analysis of indole derivatives in methanolic extracts from mycelium of *Agaricus bisporus* cultured in vitro on liquid Oddoux medium - *Boŝena Muszyńska, Katarzyna Sułkowska-Ziaja, Patrycja Hałaszk, Remigiusz Kręzałek, Maciej Łojewski*

34. Detekcja reaktywnych form tlenu oraz ocena aktywności enzymów antyoksydacyjnych u *Paecilomyces marquandii* w odpowiedzi na stres wywołany obecnością metali ciężkich – Justyna Nykiel, Mirosława Słaba, Sylwia Różalska i Jerzy Długoński
35. Wykorzystanie źródeł fosforu i siarki przez szczep *Trichoderma* wyizolowany z osadu ścieków mleczarskich, przy użyciu mikromacierzy fenotypowych (PM) – Karolina Oszust, Magdalena Frąc, Agata Gryta i Nina Bilińska
36. Oznaczenie markerów stresu oksydacyjnego u *Metarhizium robertsii* w obecności nonylofenolu – Anna Pawlak, Sandra Frączak, Sylwia Różalska i Jerzy Długoński
37. Zróżnicowanie gatunkowe i bogactwo grzybów w jeziorach Pojezierza Augustowskiego w sezonie letnim – Anna Pietryczuk, Adam Cudowski, Adam Więcko i Andrzej Górniak
38. Kinetyka rozkładu bisfenolu A przez szczep *Penicillium chrysogenum* – Milena A. Piątek i Jerzy Długoński
39. Wpływ zmiany warunków środowiska na proces degradacji bisfenolu A – Milena A. Piątek i Jerzy Długoński
40. Analiza funkcjonalna i molekularna transportera siarczanowego AstA w grzybowym patogenicie ziemniaka *Fusarium sambucinum* – Sebastian Piłsyk, Hanna Gawińska-Urbanowicz, Marzena Sieńko, Renata Natorff i Joanna S. Kruszewska
41. Badania zdrowotności buka zwyczajnego w Parku Południowym we Wrocławiu – Elżbieta Płaskowska, Katarzyna Nowik i Maciej Rdzanek
42. Bioróżnorodność potencjalnie alergogennych grzybów pleśniowych izolowanych z fermy drobiarskiej – Kinga Plewa-Tutaj
43. Wpływ różnych koncentracji grzybów patogenicznych na śmiertelność przedziorka chmielowca *Tetranychus urticae* – Tomasz Pytlak
44. Ocena tempa wzrostu liniowego grzybni *Rhizoctonia solani* na różnych podłożach hodowlanych – Maciej Rdzanek i Elżbieta Płaskowska
45. Czy grzyby z płytko umiejscowioną grzybnią są na terenach wysokogórskich ofiarami zanieczyszczenia środowiska rtęcią pochodzącą z światowego opadu atmosferycznego? – Martyna Saba, Jipeng Wang, Dan Zhang i Jerzy Falandysz
46. Wpływ tributyllocyny (TBT) na błony lipidowe szczepu grzybowego *Metarhizium robertsii* – Paulina Siewiera, Przemysław Bernat i Jerzy Długoński
47. *Russula torulosa* (Basidiomycota: Russulales), nowy dla Polski gatunek gołąbka – Małgorzata Stasińska i Zofia Sotek
48. Wpływ cieczy jonowych na fizjologię *Candida albicans* – Jakub Suchodolski, Joanna Feder-Kubis i Anna Krasowska
49. Lokalizacja tlenu azotu w korzeniach zmykoryzowanych poddanych toksycznemu działaniu Al lub Zn – Marzena Sujkowska-Rybewska i Wojciech Borucki
50. Biologicznie aktywne związki w kulturach mycelialnych wybranych

- gatunków grzybów afyloforoidalnych – *Katarzyna Sulkowska-Ziaja i Bożena Muszyńska*
51. Rzęć w maślaku zwyczajnym i jego podłożu glebowym – *Natalia Szyłke, Innocent. C. Nnorom i Jerzy Falandysz*
52. Radionuklidy (^{137}Cs , ^{40}K , ^{236}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb) w borowiku szlachetnym – *Anna Śliwińska, Martyna Saba, Grażyna Krasińska, Tamara Zalewska i Jerzy Falandysz*
53. Mikroskopijne grzyby podstawkowe (Basidiomycota) roślin naczyniowych w Tatrach – *Urszula Świdorska-Burek, Monika Kozłowska, Agata Wołczańska, Kamila Bacigálova i Wiesław Mulenko*
54. Wpływ uszkodzenia liści przez szrotówkę kasztanowcowiaczka (*Cameraria ohridella*) na mykoryzę kasztanowca białego (*Aesculus hippocastanum* L.) – *Jolanta Tyburska, Kinga Nowak-Dyjeta i Barbara Kieliszewska-Rokicka*
55. Bogactwo gatunkowe i zróżnicowanie taksonomiczne śluzowców w wybranych rejonach Polski – *Dorota Wieczorkiewicz, Dominika Ślusarczyk i Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska*
56. Rzęć w sklerotach grzyba *Wolfiporia extensa* (Peck) Ginns – *Anna Wiejak, Yuanzhong Wang, Ji Zhang i Jerzy Falandysz*
57. Kolonizacja szczątków mchu torfowca przez zmykoryzowane korzenie podczas procesu rozkładu w dwóch typach torfowisk – *Mateusz Wilk, Julia Pawłowska, Marta Wrzosek, Michał Gorczak i Małgorzata Suska-Malawska*
58. Zagrożenie mikrobiologiczne w budynkach na przykładzie mieszkań i gmachów publicznych w Warszawie – *Aleksandra Wójcik*
59. Nuklidy ^{137}Cs i ^{40}K w owocnikach maślaka sitarza – *T. Zalewska, G. Jurkiewicz, A. Śliwińska i J. Falandysz*
60. Mikrobiologiczna degradacja karbazolu – *K. Zawadzka, N. Wrońska, P. Bernat, A. Felczak i K. Lisowska*

20³⁰ uroczysta kolacja

26 września, piątek

AULA, Przyrodnicza Stacja Terenowa BiOŚ, ul. Wojciechowskiego,
SPAŁA

9⁰⁰-10²⁰ sesja tematyczna IV: PASOŻYTY, PATOGENY I ICH KONTROLA

prowadzący **Kinga Mazurkiewicz-Zapałowicz i Wojciech Wakuliński**

9⁰⁰-9²⁰

wykład wiodący: Zastosowanie metod molekularnych w diagnostyce wybranych grzybic człowieka
Tomasz Jagielski

9²⁰-9⁴⁰

Epidemiologia grzybic paznokci na podstawie danych Zakładu Mykologii UJ-CM (2008-2013)
Paweł Krzyściak, Magdalena Skóra i Małgorzata Bulanda

- 9⁴⁰-10⁰⁰ Grzybice zwierząt – aktualne problemy
Bożena Kaszak
- 10⁰⁰-10²⁰ Grzyby wodne związane z glonami – stan zbadania w Polsce
Piotr Knysak, Joanna Żelazna-Wieczorek i Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska

10²⁰-12²⁰ sesja tematyczna V: SYSTEMATYKA I EWOLUCJA GRZYBÓW I ORGANIZMÓW GRZYBOPODOBNYCH

prowadzące **Lucyna Śliwa i Agata Wolczańska**

- 10²⁰-10⁴⁰ **wykład wiodący:** Gatunki kryptyczne, specyficzność żywicielska i niepoznana różnorodność grzybów główniowych
Marcin Piątek
- 10⁴⁰-11⁰⁰ Przegląd nowych metod stosowanych do identyfikacji pleśniakowców (*Mucorales*)
Julia Pawłowska, Mateusz Wilk i Marta Wrzosek
- 11⁰⁰-11²⁰ Stan zbadania grzybów z rodzaju *Septoria* w Polsce
Agata Wolczańska
- 11²⁰-11⁴⁰ Grzyby gasteroidalne – morfologia wybranych zagrożonych i rzadkich gatunków notowanych w Polsce
Janusz Łuszczynski i Agnieszka Tomaszewska
- 11⁴⁰-12⁰⁰ Grzyby w astrobiologii
Justyna Kwiatkowska
- 12⁰⁰-12²⁰ Postęp techniczny w mikroskopii firmy NIKON
Tomasz Ziółkowski

12²⁰-12⁴⁰ przerwa kawowa

12⁴⁰-14⁴⁰ sesja tematyczna VI: SYMBIOZY – BADANIA PODSTAWOWE I APLIKACYJNE

prowadzący **Dorota Hilszczańska i Tomasz Leski**

- 12⁴⁰-13⁰⁰ **wykład wiodący:** Rola grzybów mykoryzowych w fitoremediacji
Katarzyna Hryniewicz
- 13⁰⁰-13²⁰ Status mykoryzowy i obecność grzybowych endofitów korzeniowych u 37 gatunków roślin obcego pochodzenia w Europie
Marta L. Majewska, Janusz Błaszowski, Marcin Nobis, Agnieszka Nobis, Daria Łakomiec, Paweł Czachura i Szymon Zubek

- 13²⁰-13⁴⁰ Wpływ inwazji *Reynoutria japonica*, *Rudbeckia laciniata* oraz *Solidago gigantea* na grzyby arbuskularne
Szymon Zubek, Marta L. Majewska, Janusz Błaszowski, Anna M. Stefanowicz i Marcin Nobis
- 13⁴⁰-14⁰⁰ Grzyby tomentelloidalne Polski widziane z perspektywy badań podziemnych zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych
Tomasz Leski, Maria Rudawska, Leszek Karliński i Marcin Pietras
- 14⁰⁰-14²⁰ Udział genotypu topoli i środowiska glebowego w kształtowaniu zbiorowisk grzybów mykoryzowych i mikroorganizmów glebowych
Leszek Karliński
- 14²⁰-14⁴⁰ Partnerzy trufli letniej *Tuber aestivum* Vittad.
Aleksandra Rosa-Gruszecka, Dorota Hilszczańska, Hanna Szmidla i Katarzyna Sikora

14⁴⁰-15⁴⁰ obiad

15⁴⁰-17⁴⁰ sesja tematyczna VII: GRZYBY W GOSPODARCE LEŚNEJ, ROLNICTWIE, OGRODNICTWIE I ZRÓWNOWAŻONYM ROZWOJU

prowadzący **Maria Kowalik i Zbigniew Sierota**

- 15⁴⁰-16⁰⁰ **wykład wiodący:** Przywracanie nadrzewnych grzybów chronionych z warunków *ex situ* do środowiska przyrodniczego
Jacek Piętko
- 16⁰⁰-16²⁰ Występowanie grzybów entomopatogenicznych w glebach agrocenoz i środowisk seminaturalnych
Cezary Tkaczuk
- 16²⁰-16⁴⁰ Dwa nowe gatunki grzybów z rodzaju *Leptographium* związane ze *Scolytus ratzeburgii* i *Trypodendron domesticum* w Polsce
Robert Jankowiak
- 16⁴⁰-17⁰⁰ Micromycetes na liściach roślin wrzosowatych *Ericaceae*
Maria Kowalik, Joanna Bonio, Klaudia Duda
- 17⁰⁰-17²⁰ 90 lat Lasów Państwowych
Janusz Witkowski
- 17²⁰-17⁴⁰ Etnomykologia grzybów jadalnych w Polsce od połowy XIX w.: co o zbieraniu grzybów mówią publikacje etnograficzne
Łukasz Łuczaj

17⁴⁰-18⁰⁰ przerwa kawowa

18⁰⁰-20⁰⁰ sesja tematyczna VIII: BIORÓŻNORODNOŚĆ I OCHRONA GRZYBÓW, ROLA GRZYBÓW W MONITORINGU I OCHRONIE ŚRODOWISKA

prowadzący **Bożena Kiziewicz i Janusz Łuszczyński**

- 18⁰⁰-18²⁰ **wykład wiodący:** Bioróżnorodność i ochrona grzybów. Rola makrogrzybów w monitoringu i ochronie przyrody i środowiska
Anna Kujawa
- 18²⁰-18⁴⁰ Możliwości wykorzystania danych o krajowych populacjach gatunków grzybów na potrzeby określenia kategorii zagrożenia według kryteriów IUCN
Kamil Kędra
- 18⁴⁰-19⁰⁰ *Boletus projectellus* (Murrill) Murrill w Polsce – czy może stanowić zagrożenie dla krajowych mykocenoz?
Marta Wrzosek, Michał Gorczak, Julia Pawłowska i Mateusz Wilk
- 19⁰⁰-19²⁰ Pasażerowie na gapę czy wspólnicy w interesach? Dagleżja zielona *Pseudotsuga menziesii* i jej symbionty mykoryzowe poza naturalnym zasięgiem występowania
Marcin Pietras, Anna Kujawa i Maria Rudawska
- 19²⁰-19⁴⁰ Grzyby mikroskopijne związane z roślinami zbiorowisk torfowiskowych – rola ochrony siedliskowej w zachowaniu micromycetes
Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska i Małgorzata Stasińska
- 19⁴⁰-20⁰⁰ Nowy mykologiczny hotspot w Polsce? Biebrzański Park Narodowy w badaniach uczestników sesji teenowych PTMyk:
Jarosław Szkodzik, Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska, Anna Kujawa, Marta Wrzosek, Stanisław Bałazy, Jerzy Chelkowski, Grażyna Domian, Maria Dynowska, Błażej Gierczyk, Izabela Kałucka, Leszek Karliński, Kamil Kędra, Dariusz Kubiak, Tomasz Leski, Maria Ławryniewicz, Julia Pawłowska, Marcin Pietras, Maria Rudawska, Małgorzata Stasińska, Ewa Sucharzewska, Dominika Ślusarczyk, Cezary Tkaczuk i Mateusz Wilk

STRESZCZENIA REFERATÓW I POSTERÓW

Wpływ związków cynoorganicznych na błony grzybów mikroskopowych

Przemysław Bernat*, Paulina Siewiera, Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii

i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; *pbernat@biol.uni.lodz.pl

Wstęp. Związki organiczne cyny znane są od ponad stu pięćdziesięciu lat, ale szersze zastosowanie znalazły dopiero w latach 40. ubiegłego wieku, przede wszystkim jako czynnik stabilizujący przy produkcji chlorku poliwinylu (PCW). W następnych latach rozpoczęto stosowanie organicznych pochodnych cyny jako dodatek do farb pokrywających kadłuby statków, sieci i konstrukcji podwodnych, ograniczając ich kolonizację przez organizmy wodne.

W trakcie prowadzonych w wielu ośrodkach naukowych badań stwierdzono toksyczne oddziaływanie związków cynoorganicznych na organizmy żywe. Spośród nich szczególnie niebezpieczna okazała się tributyllocyna (TBT). Związek ten oddziałuje m.in. na układ hormonalny, odpornościowy, nerwowy, funkcjonowanie błon biologicznych, procesy energetyczne w komórkach. Uważa się także, że TBT odpowiada za zwiększanie się liczby komórek tłuszczowych w organizmach ssaków (obesogen).

Pomimo wysokiej toksyczności TBT, oznaczono drobnoustroje zdolne do wzrostu w obecności biocydu. Ponieważ TBT wnika do lipofilowego obszaru błon biologicznych, nie można wykluczyć, że ich oporność jest powiązana z indukowaniem zmian w profilu lipidowym.

Cel. Określenie wpływu związków cynoorganicznych na profil fosfolipidowy grzybów mikroskopowych *Cunninghamella elegans* i *Penicillium chrysogenum*.

Materiały i metody. Hodowle grzybów mikroskopowych prowadzono przez 5 dni na podłożu Sabouraud (28°C, 140 obr/min.). Badane próby grzybni ekstrahowano wg procedury Folcha, stosując mieszaninę metanol i chloroform. Następnie, korzystając z techniki tandemowej spektrometrii mas i chromatografii cieczowej (LC-MS/MS) oznaczono lipidy grzybowe.

Wyniki. Oznaczono lipidy wchodzące w skład następujących klas fosfolipidów: kwasu fosfatydowego (PA), fosfatydylocholiny (PC), fosfatydyloetanolaminy (PE), fosfatydylo-inozytolu (PI), fosfatydyloseryny (PS) i fosfatydyloglicerolu (PG). Na podstawie otrzymanych danych jakościowych zaprojektowano dla każdego wyodrębnionego fosfolipidu czułą i selektywną metodę ilościową oznaczeń (MRM, *multiple reaction monitoring*).

Zaobserwowano, dwukrotnie większe zahamowanie wzrostu u *P. chrysogenum* niż u *C. elegans* w obecności TBT. Wykazano dominację lipidów zawierających nasycone kwasy tłuszczowe w poszczególnych klasach fosfolipidów *C. elegans* narażonych na działanie TBT, co przekładało się na spadek indeksu nienasylenia (DBI). Stwierdzono również ubytek lipidów pochodzących z różnych klas zawierających kwas gamma-linolenowy. Natomiast, u *P. chrysogenum* obserwowano wzrost DBI i ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych w obecności TBT.

Wnioski. Wykazano, że oddziaływanie TBT na profil fosfolipidowy jest

zależne od badanego drobnoustroju. U grzyba opornego na wysokie stężenia TBT stwierdzono wzrost ilości nasyconych kwasów tłuszczowych, co może świadczyć, że zdolność do przeżycia w obecności biocydu jest związana ze zmianami w profilu fosfolipidowy organizmu.

Praca badawcza była finansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki Nr UMO-2011/01/B/NZ9/02898.

Influence of organotin compounds on membrane lipids of microscopic fungi

Przemysław Bernat*, Paulina Siewiera, Jerzy Długoński

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, University of Łódź
12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź; *pbernat@biol.uni.lodz.pl

Introduction. Organotin compounds have been known for over a hundred and fifty years, but they found a wider application in the 40's of last century, mainly as stabilizing factors in the production of polyvinyl chloride (PVC). In the subsequent years, organotins started to be used as additives for the paints covering the hulls of ships, nets and underwater structures, to limit their colonization by aquatic organisms.

In the course of many research studies, toxic effect of organotin compounds on living organisms was revealed. Among them, tributyltin (TBT) proved to be particularly dangerous. This biocide has been reported to be immuno-, neuro-, hepato-, nephro-, gastro- toxic and also to cause testicular damage. However, the mechanism(s) by which TBT induces toxicity have not been fully established.

Despite the high toxicity of TBT, some microorganisms capable of growing in the presence of the biocide have been found. Since TBT enters the area of the lipophilic biological membranes, it cannot be excluded that their resistance is associated with the induction of changes in the lipid profile.

Aim. Determination of the effect of organotin compounds on the phospholipid profile of microscopic fungi *Cunninghamella elegans* and *Penicillium chrysogenum*.

Materials and methods. Fungal strains were incubated in Sabouraud medium with TBT (10 mg/l) or without the biocide. Fungal biomass from the stationary phase of growth was applied to extract phospholipids using the Folch procedure. Profiling of fungal phospholipids was performed using high performance liquid chromatography (HPLC)-MS/MS

Results. Phospholipids from six classes were determined: phosphatidylcholine (PC), phosphatidylserine (PS), phosphatidic acid (PA), phosphatidylinositol (PI), phosphatidyl-glycerol (PG) and phosphatidylethanolamine (PE). Individual phospholipids were then quantified by a multiple reaction monitoring method (HPLC-MRM)

Two-fold greater inhibition of growth of *P. chrysogenum* than of *C. elegans* in the presence of TBT was observed. It was shown that the lipids of *C. elegans* exposed to TBT contained mainly saturated fatty acids. We also found

that the DBI index, which indicates the level of lipids unsaturation decreased in the TBT presence. A loss of lipids from different classes containing gamma-linolenic acid was also noticed. In contrast, in *P. chrysogenum* an increase in the amount of unsaturated fatty acids and DBI was observed in the presence of TBT.

Conclusion. It was shown that the effects of TBT on the phospholipid profile depended on the tested microorganism. In the fungus resistant to the high concentrations of TBT an increased amount of saturated fatty acids was observed. This phenomenon may indicate that the ability to survive in the presence of the biocide is associated with changes in the profile of the phospholipids.

This study was supported by the National Centre for Science in Krakow, Poland (Project No. UMO-2011/01/B/NZ9/02898).

Mikromacierze fenotypowe w ocenie uzdolnień do wykorzystania azotu przez szczepy *Neosartorya fischeri*

Nina Bilińska*, Magdalena Frąc**, Agata Gryta, Karolina Oszust
Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4
20-290 Lublin 27

tel.: 81 744 50 61; *n.bilinska@ipan.lublin.pl, **m.frac@ipan.lublin.pl

Neosartorya fischeri jest termoopornym grzybem strzępkowym, produkującym toksyczne metabolity. Gatunek ten jest blisko spokrewniony z toksynotwórczym grzybem *Aspergillus fumigatus*. Występuje powszechnie w glebie oraz na nisko rosnących bądź mających kontakt z glebą owocach. Grzyby należące do gatunku *N. fischeri* mogą wyrządzić duże straty ekonomiczne, jeśli znajdują się w surowcu przeznaczonym do przetwórstwa, powodując jego skażenie. Dlatego też poznanie ich metabolizmu jest ważne z poznawczego i praktycznego punktu widzenia, zmierzającego do opracowania szybkich metod monitoringowych dotyczących selekcji surowca. Charakterystyka profilu metabolicznego umożliwia poszerzenie wiedzy w zakresie właściwości katabolicznych tych grzybów, co ułatwi poznanie związków hamujących lub stymulujących ich rozwój.

Celem badań było porównanie profilu wykorzystywania źródeł azotu przez dwa środowiskowe szczepy *Neosartorya fischeri* o różnym pochodzeniu geograficznym i materiałowym.

Szczep DSM 3700 zakupiony z kolekcji DSMZ (Braunschweig, Germany), pochodził z puszkowanych jabłek. Natomiast szczep G48/12 został wyizolowany z truskawek w Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej IA PAN (GenBank: KC179765).

Badania zostały przeprowadzone za pomocą technologii mikromacierzy fenotypowych PM (Biolog Phenotype Micro Arrays PMs). Hodowle szczepów *N. fischeri* prowadzono przez 14 dni w temperaturze 26°C, na podłożu PDA w ciemności. Ocenę profilu wykorzystania źródeł azotu przeprowadzono z użyciem płytek PM3. Płytki Biolog PM3 zawierała 95 źródeł azotu: 33

aminokwasy, 12 polipeptydy, 3 substraty nieorganiczne, 47 innych substratów oraz wodę jako kontrolę. Inokulację przeprowadzono zgodnie z instrukcjami firmy BIOLOG, następnie płytki inkubowano w temperaturze 26°C przez 96 godzin w urządzeniu OmniLOG, w którym co 15 minut przez 8 dni, dokonywane były automatyczne odczyty wykorzystania poszczególnych związków. Analizę wyników wykonano przy pomocy oprogramowania The Phenotype MicroArray (PM).

Spośród 95 różnych źródeł węgla szczep G48/12 wykorzystywał w różnym stopniu około 70 substratów, natomiast szczep DSM 3700 około 40, co wskazuje na zdecydowanie szersze uzdolnienia fizjologiczne szczepu środowiskowego, w porównaniu do przechowywanego przez wiele lat w kolekcji. Efekt ten spowodowany był prawdopodobnie koniecznością przystosowania się szczepu G48/12 do konkurencji i zmiennych warunków środowiskowych. Najchętniej zużywanymi substratami spośród aminokwasów, przez oba szczepy były: L-alanina, L-asparagina, L-ornityna. Szczep środowiskowy był w stanie wykorzystać wszystkie polipeptydy znajdujące się na płytce PM3, a najintensywniej zużywał: Ala-Asp, Ala-Thr, Gly-Met. Agmatyna oraz inozyna odznaczały się intensywną utylizacją przez oba szczepy, zaś ksantyny przez szczep środowiskowy.

Szczep środowiskowy odznaczał się szerszymi uzdolnieniami do wykorzystania substratów w porównaniu do szczepu wzorcowego. Podkreślić warto, że wszystkie substraty zużywane przez szczep DSM 3700 były również utylizowane przez szczep G48/12.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki (Polska), project: DEC-2012/07/D/NZ9/03357.

Phenotype Microarray in evaluation of abilities to nitrogen utilization by *Neosartorya fischeri* strains

Nina Bilińska*, Magdalena Frac**, Agata Gryta, Karolina Oszust
Institute of Agrophysics of Polish Academy of Sciences, 4 Doświadczalna St.
PL-20-290 Lublin 27
phone: 81 744 50 61, *n.bilinska@ipan.lublin.pl, **m.frac@ipan.lublin.pl

Neosartorya fischeri is heat resistant fungi, which produced toxigenic metabolites. This fungi is close related to *Aspergillus fumigatus*. *N. fischeri* presents in soil and low-growing or having contact with soil fruits. This fungi can be responsible for economical loses, when their spores contaminated raw materials. Therefore, knowledge of their metabolism is important for cognitive and practical point of view, aiming at the development of rapid monitoring methods for the raw material selection. The metabolic profile characteristics allows to develop knowledge of the catabolic properties of these fungi, enabling knowledge compounds which inhibit or stimulate their growth.

The aim of the study was to compare nitrogen sources profile utilization by two environmental strains *Neosartorya fischeri* of different geographical

origin.

Strain DSM 3700 was purchased from the collection of the DSMZ (Braunschweig, Germany), came from canned apples. In contrast, G48/12 strain was isolated from strawberry in the Laboratory of Molecular and Environmental Microbiology IA PAS (GenBank: KC179765). The study was performed with Phenotype Microarray technology PM (Biolog Phenotype Micro Arrays PMs). Cultures of strains of *N. fischeri* was carried out for 14 days at a temperature of 26°C, at PDA medium in the dark substrate.

Nitrogen sources utilization profile was carried out using PM3 plates. Biolog PM3 plate consisted of 95 different nitrogen sources include: 33 amino acids, 12 polypeptides, 3 inorganic substrates, 47 miscellaneous substrates and water as a control. The inoculation was carried out in accordance with instructions issued by BIOLOG, then the plates were incubated at 26°C for 96 hours at OmniLOG device, wherein every 15 minutes for 8 days, automated readings were made using the individual compounds. Analysis of the results was performed using the software Microarray The Phenotype (PM).

Among the 95 carbon sources G48/12 strain used in varying degrees about 70 substrates, and the strain DSM 3700 about 40, which points to a broader physiological abilities environmental strain, compared to a stored for many years in the collection. This effect was probably caused by the need to adapt to the strain G48/12 to competition and changing environmental conditions. The most used substrates from the amino acids, for both strains were: L-Alanine, L-Asparagine, L-Ornithine. The environmental strain was able to use all of the polypeptides on the circuit PM3, most extensively consume environmental strain Ala-Asp, Ala-Thr, Gly-Met. Agmatine and Inosine were characterized by intensive utilization by both strains, and Xanthine by environmental strain.

Environmental strain was characterized by wider abilities to use substrates compared to the reference strain. Emphasize the value that all substrates consumed by the strain DSM 3700 were also utilized by the strain G48/12.

The study was supported by National Science Centre (Poland), grant: DEC-2012/07/D/NZ9/03357.

Zmiany w hydrofobowości i adhezji *Candida albicans* pod wpływem biosurfaktantów

Piotr Biniarz, Gabriela Baranowska, Anna Krasowska*

Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski

ul. Joilot-Curie 14a, 50-383 Wrocław; anna.krasowska@uni.wroc.pl

Grzyby *Candida albicans* należą do patogenów oportunistycznych człowieka. Stanowią naturalną mikroflorę jelitową, ale u osłabionych osób mogą wywołać kandydozę (Pfaller, Diekema 2007). Istotnym problemem jest zdolność *C. albicans* do adhezowania do podłoża oraz tworzenia biofilmów. Poszukiwane są związki zdolne do zabezpieczania powierzchni przed adhezją oraz rozpraszania istniejących już biofilmów. Takimi substancjami mogą być biosurfaktanty. Biosurfaktanty prawdopodobnie opłaszczą powierzchnię, dzięki czemu chronią ją przed kolonizacją mikroorganizmów. Dokładny

mechanizm działania biosurfaktantów nie został jednak poznany. W pracy wykazano, że lipopeptydowy bio-surfaktant pseudofaktyna II (PFII) (Janek et al. 2010) oddziałuje z komórkami *C. albicans*, obniżając ich hydrofobowość (CSH). Po inkubacji z PFII, CSH szczepów hydrofobowych obniżało się w porównaniu do szczepów hydrofilowych. Nie zaobserwowano różnicy w aktywności miceli i monomerów PFII. PFII znacznie obniża adhezję *C. albicans* do powierzchni polistyrenu, a efekt jest zależny od stężenia. Kondycjonowanie powierzchni polistyrenu roztworami PFII redukuje jej podatność na adhezję. Również inkubacja grzybów z PFII obniża ich zdolność do adhezji. Jednak po usunięciu PFII adhezja szczepów hydrofobowych wzrasta około dwukrotnie. Wyniki sugerują, iż antiadhezyjna aktywność PFII polega nie tylko na obniżeniu hydrofobowości szczepów, lecz również jest uzależniona od innych procesów. Badania nad ekspresją genu kodującego białko Csh1p, którego nieobecność w komórkach powoduje obniżenie hydrofobowości o 75% (Singleton et al. 2005), nie wykazały różnic pomiędzy komórkami kontrolnymi a traktowanymi PFII. Skład i ilość białek w zewnętrznej warstwie ściany komórkowej również nie ulegały zmianie po inkubacji z PFII. Wyjaśnienie zachodzącego procesu wymaga więc dalszych badań.

Changes in hydrophobicity and adhesion of *Candida albicans* in the presence of biosurfactants

Piotr Biniarz, Gabriela Baranowska, Anna Krasowska*

Faculty of Biotechnology, University of Wrocław

14a Joilot-Curie St., PL-50-383 Wrocław; *anna.krasowska@uni.wroc.pl

Candida albicans is responsible for many fungemias, especially in immunocompromised patients (Pfaller, Diekema 2007). A serious problem is the propensity of *C. albicans* for adhering to various surfaces and ability to form biofilms. Surfactants or biosurfactants can affect the cell surfaces of microorganisms as well as abiotic surfaces. Microbial surfactants have often antimicrobial and antiadhesive properties but knowledge about the mechanism of their action is scarce. In this work we demonstrated that the lipopeptide biosurfactant, pseudofactin II (PFII) (Janek et al. 2010) effectively decreased cell surface hydrophobicity (CSH) of *C. albicans* cells, probably by coating of their cell surface. After incubation with PFII, CSH of hydrophobic strains decreased significantly and we did not observe differences between action of monomers and micelles. In terms of the antiadhesive activity, PFII was more effective above critical micelle concentration (0.072 mg/ml) hence the adhesion was inhibited more strongly with micelles than monomers. Hydrophilic strains seemed to be less resistant to the influence of PFII than hydrophobic ones. We investigated the adhesion of cells to surfaces coated with PFII as well as of cells preincubated with PFII. Interestingly, we observed that in the case of hydrophobic strains, their adhesion to polystyrene surface increased two-fold after removing PFII. The results indicate that the antiadhesive activity of PFII occurs not only through a change of CSH of *C.*

albicans cells but also by other mechanisms. Investigation of the expression of the gene encoding Csh1 protein, which deletion causes 75% decreasing in hydrophobicity (Singleton et al. 2005), did not indicate any differences between control cells and cells pretreated with PFII. The composition and quantity of proteins in the outer part of cell wall also was not changed after treatment with biosurfactant. The explanation of the mechanism of antiadhesive activity of PF II requires further research.

Pfaller MA, Diekema DJ (2007) Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev 20, 133-163.

Janek T, Łukaszewicz M, Rezanka T, Krasowska A., (2010), Isolation and characterization of two new lipopeptide biosurfactants produced by *Pseudomonas fluorescens* BD5 isolated from water from the Arctic Archipelago of Svalbard, Bioresource Technology, 101, 6118-6123.

Singleton DR., Fidel Jr PL., Wozniak KL., Hazen KC. (2005), Contribution of cell surface hydrophobicity protein 1 (Csh1p) to virulence of hydrophobic *Candida albicans* serotype A cells, FEMS Microbiology Letters 244, 373-377.

Grzyby i rośliny: osobliwe relacje

Anna Bujakiewicz

Zakład Ekologii Roślin i Ochrony Środowiska
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

Rośliny bezzieleniowe zdobywają węgiel na dwa różne sposoby. U jednych transfer węgla organicznego odbywa się bezpośrednio od rośliny autotroficznej przy udziale struktur określanych jako haustoria. Są to rośliny pasożytnicze należące do dwuliściennych. Innym sposobem zdobywania węgla organicznego jest mykoheterotrofia polegająca na transferze węgla z sieci mykoryzowej łączącej roślinę autotroficzną z grzybem. Jest to osobliwy, trójstronny układ: roślina zielona-grzyb-roślina bezzieleniowa (mykoheterotrof), w którym roślina nie fotosyntetyzująca pasożytuje na sieci mykoryzowej (jest epipasożytem).

Rośliny mykoheterotroficzne występują w różnych, niespokrewnionych rodzinach, począwszy od wątrobowców (Bryophyta) przez paprocie (Pteridophyta) do roślin okrytozalążkowych (Angiospermae). Rozpoznano dotąd ponad 400 gatunków roślin naczyniowych z 87 rodzajów, które należą do mykoheterotrofów. Są one często niewłaściwie określane jako „saprofity”. Charakteryzują się wspólnymi cechami rozwojowymi i strukturalnymi, np. brakiem liści lub ich redukcją, ograniczeniem systemu korzeniowego, zmniejszeniem wymiaru nasion, uproszczeniem budowy pędów i podziemnym trybem życia. Dużą grupę roślin mykoheterotroficznych stanowią bezzieleniowe storczyki. Ponadto spotykane są w rodzinach Ericaceae, Gentianaceae i Polygalaceae. Mykoheterotrofy są szeroko rozpowszechnione na kuli ziemskiej, ale największe ich bogactwo występuje w obszarach Neotropis i Paleotropis.

Rośliny mykoheterotroficzne wykorzystują jako źródło węgla grzyby z różnych grup taksonomicznych: zarówno podstawczaki (Basidiomycetes) jak i workowce (Ascomycetes). Są wśród nich zarówno grzyby ECM, jak i AM, tworzące owocniki podziemne i naziemne, jak i takie, które ich wcale nie wykształcają.

Niektóre gatunki *Voyria* (Gentianaceae) występujące w Neotropis wykorzystują sieć mykoryzy arbuskularnej (*Glomus* spp.) z drzewami tropikalnymi. Storczyk *Neottia nidus-avis* (Orchidaceae, Europa) korzysta z węgla obecnego w sieci ektomykoryzowej tworzonej przez *Sebacina* spp. (Heterobasidiomycetes) z roślinami drzewiastymi z rodzaju *Fagus* sp. i *Corylus* sp. Mykoheterotrofia wyrażona jest najsilniej w podrodzynie Monotropoideae (Ericaceae). Centrum różnorodności tej grupy roślin jest zachodnia Ameryka Północna, gdzie występuje osiem z dziesięciu rodzajów należących do tej podrodziny. Przykładami z Ameryki Północnej mogą być *Allotropa virgata* pasożytująca na grzybni *Tricholoma magnivelare* oraz *Pleuricospora fimbriolata*, uzyskująca węgiel z grzybni podziemnego podstawczaka *Gautieria monticola*. *Monotropa hypopitys* występująca na półkuli północnej związana jest w Europie z rodzajem *Tricholoma* (*T. columbetta*, *T. portentosum*, *T. saponaceum*), a na terenie Ameryki Północnej jest w kontakcie z *Tricholoma portentosum*, *T. flavovirens* i *T. sejunctum*.

Rośliny mykoheterotroficzne są epipasożytami na grzybach mykoryzowych (a nie „saprofitami”), czerpią węgiel organiczny pośrednio z żywych roślin autotroficznych za pośrednictwem sieci mykoryz a nie z rozkładającej się materii organicznej. Mykoryzowe epipasożyty są eksploatarami jednego z najbardziej rozpowszechnionych i najstarszych mutualizmów międzygatunkowych.

Fungi and plants: peculiar relations

Anna Bujakiewicz

Department of Plant Ecology and Environmental Protection

Adam Mickiewicz University

89 Umultowska St., PL-61-614 Poznań

Achlorophyllous plants gain organic carbon on two different ways. In one, the transfer of organic carbon is sustained by direct attachment to autotrophic plants through haustorium-like structure. These are parasitic plants which belong to dicotyledonous group of the plant kingdom. Another way of gaining carbon takes place in myco-heterotrophy in which achlorophyllous plant forms association with mycorrhizal fungi which are co-associated with the roots of autotrophic plant. This is peculiar, tripartite autotroph-fungus-mycoheterotroph relationship in which achlorophyllous plant directly parasitizes (epiparasite) the mycorrhizal network.

Mycoheterotrophic plants are found in various unrelated families from the liverworts (Bryophyta), through the ferns (Pteridophyta) to the Angiosperms. More than 400 species of vascular plants, in 87 genera, have been recognized as mycoheterotrophic. They are often, incorrectly described as “saprophytes”

in various references. They all have a number of structural and developmental features in common, e.g. lack of leaves or their diminution, reduction of root system. They are characterized by common structural and developmental features e.g. lack of leaves or their diminution, reduction of the root system, reduced seed size, simplified shoot construction and subterranean lifestyle. Achlorophyllous orchids (Orchidaceae) constitute an essential group of mycoheterotrophic plants. Moreover, mycoheterotrophs are found in Ericaceae (Monotropoideae), Gentianaceae and Polygalaceae. Mycoheterotrophic plants are widely distributed in the world but they show the greatest abundance and richness in the Neotropics and Paleotropical regions.

Mycoheterotrophs acquire fixed carbon from their mycorrhizal fungi of various taxonomic groups, both basidiomycetes and ascomycetes. In mycoheterotrophic relationships, fungi forming ectomycorrhiza (ECM) and arbuscular mycorrhiza (AM) are involved, including species producing hypogeous and epigeous fruitbodies, as well as those which do not produce carpophores.

Some *Voyria* species from Gentianaceae family occurs mainly in dense rain forest on fertile soil and in Amazonian Caatinga forest. Typically it has vermiform/coralloid roots and its diaspores are water repellent and dispersed by water and rainsplash. *Voyria* species parasitize arbuscular mycorrhizal network of *Glomus* spp. (Glomeromycota) which form mutualistic symbiosis with tropical trees. *Neottia nidus-avis* (Orchidaceae), non-photosynthetic orchid widely distributed in Europe, gains organic carbon from ectomycorrhizal network of *Sebacina* spp. (Sebacinales, Heterobasidiomycetes) which form mutualistic symbiosis with forest trees (*Fagus* sp., *Corylus* sp.). Mycoheterotrophy is remarkably prominent in Monotropoideae, a diverse subfamily of Ericaceae. These are achlorophyllous angiospermous plants. Their roots are entirely ensheathed in ectomycorrhizal fungal mycelium and are nourished by carbon passing through a mycorrhizal network linked to autotrophic trees. The centre of diversity of the Monotropoideae is western North America where 8 out of 10 nonphotosynthetic genera occur. The Monotropoideae occur in evergreen, dense and deciduous ectomycorrhizal forests throughout the northern hemisphere, dominated by Pinaceae, Fagaceae, Salicaceae and Dipterocarpaceae. Leading examples from North America include *Allotropa virgata* (California, Oregon) using carbon from ectomycorrhizal network of *Tricholoma magnivelare*; *Pleuricospora fimbriolata* (California, Oregon) gaining carbon from ectomycorrhizal hypogeous basidiomycete *Gautieria monticola*, as well as *Monotropa uniflora* (Oregon, Virginia, Vermont) exploiting ectomycorrhizal networks of Russulaceae (*Russula brevipes*, *Lactarius theiogalus*). *Monotropastrum humile* (Japan) obtains carbon from ectomycorrhizal fungal mycelium of *Russula postiana*. *Monotropa hypopitys*, widespread in Europe, derives carbon from ectomycorrhizal mycelium of various species of *Tricholoma*, e.g. *T. columbetta*, *T. portentosum* and *T. saponaceum*. In North America however this monotropoid plant has different set of hosts, namely *Tricholoma portentosum*, *T. flavovirens* and *T. sejunctum*. In Great Britain *Monotropa hypopitys* parasitizes ectomycorrhizal network of

Tricholoma cingulatum linked to *Salix repens*. It also grows with *Tricholoma terreum* and *Pinus sylvestris*. Nonphotosynthetic orchid *Epipactis microphylla* (Southern Europe) takes carbon from ectomycorrhizal ascomycete *Tuber excavatum* linked to tree genera *Fagus* and *Corylus*.

Mycoheterotrophic plants are epiparasites (not “saprophytes”) and gain organic carbon not from decaying organic matter, but from living autotrophic plants through a shared mycorrhizal fungus. Mycorrhizal epiparasites are exploiters of one of the widely distributed and ancient interspecific mutualism.

Grzyby patogenne izolowane od zwierząt, ich środowiska i właścicieli

Iwona Dąbrowska*, Bożena Dworecka-Kaszak, Małgorzata Biegańska

Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; *iwona.dabrowska@10g.pl

Grzyby występują powszechnie w środowisku i są częstym czynnikiem powodującym schorzenia, w tym choroby zakaźne, często choroby odzwierzęce, zoonozy. Zakażenia grzybicze można podzielić na dermatofitozy, infekcje podskórne i zakażenia układowe.

Celem pracy było określenie częstości izolacji potencjalnie chorobotwórczych grzybów od zwierząt, ich środowiska i ich właścicieli.

Materiał badawczy (wymazy) obejmował 25 próbek ze skóry od zdrowych zwierząt, ich miejsca odpoczynku i z powierzchni skóry rąk ich właścicieli.

Z całkowitej liczby 75 badanych próbek otrzymano 114 izolatów grzybów, 33 z nich pochodziły od zwierząt, 39 od ludzi a 42 ze środowiska. Grzyby strzępkowe stanowiły 93,86 % wszystkich izolatów, a drożdże 6,14%. Dermatofitów nie wyhodowano.

Zwierzęta towarzyszące i ich środowisko są naturalnym rezerwuarem wielu potencjalnie patogenicznych gatunków grzybów. Największą grupę spośród badanych próbek stanowiły grzyby z rodzaju *Alternaria*.

Pathogenic fungi isolated from pets, their environment and owners

Iwona Dąbrowska*, Bożena Dworecka-Kaszak, Małgorzata Biegańska

Division of Microbiology, Department of Preclinical Sciences

Faculty of Veterinary Medicine

Warsaw University of Life Sciences-SGGW

8 Ciszewskiego St., PL-02-786 Warszawa; *iwona.dabrowska@10g.pl

Introduction. The classical taxonomy of fungi is mainly based on an assessment of their morphology and sporulation. The size, shape, sporulation allows to determine affinity to genera and species (Murray et al. 2011).

From among more than 100 000 described species of fungi, most are saprophytes, and only a few over 100 are common pathogens of animal and

human organisms. Several hundred species may also be a cause of opportunistic fungal infections (Dworecka-Kaszak 2008).

Medically important fungi can be classified as an opportunistic pathogens or as a basic, primary pathogens. Most of mycoses are mostly opportunistic fungal infections (Shoham and Levitz 2005). Opportunists rarely cause disease in the immunocompetent host. Primary pathogens are obligate pathogens that cause disease in healthy hosts, both human and other mammals, such as livestock and pets (Casadevall 2007). However pathogenicity of opportunistic fungi is determined by the overall health of the host, because in most cases, these microorganisms are saprophytes which are able to cause serious infection in immunocompromised host (Murray et al. 2011).

Materials and Methods. The swabs were taken from the skin of 25 healthy animals, their resting places and from the skin of their owner hands. A total of 75 specimens were collected and cultivated on Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Becton Dickinson) in typical conditions. All obtained colonies were investigated macroscopically and microscopically by analyzing the rate of growth, spores shape, texture and color of the colony. Collected data were applied to morphological identification of mycelial fungi according to the Atlas of Clinical Fungii (De Hoog et al. 2000). Classification of yeasts and yeast-like fungi were done basing on cells' and colonies' morphology and biochemical properties, evaluated with API Candida microtests. (bioMérieux).

Based on the basis of the results, the dominance of individual species of fungi was calculated according to the method described by Czachorowski (Czachorowski 2006) using the formula:

$$D_i = \frac{n_i}{N} \cdot 100\%$$

D_i – the dominance, n_i – number of the i -th species, N – total number of all species

Based on the results of dominance was divided into classes based on this proposed by Biesiadka (Biesiadka 1980):

1. eudominant (the species with the number of dominate more than 10%),
2. dominant (5,1-10%),
3. subdominant (2,1-5%),
4. reducers (below 2%)

Results. From all investigated samples 114 fungal isolates were obtained. Among them: 33 isolates were originated from animals, 39 were obtained from owners skin followed by 42 strains from contaminated environment. The majority of isolates were mycelial fungi (93.86%) and the yeasts were identified in 6.14% of all cultures. Dermatophytes were not found. In 4 samples there was no growth at all.

A total of 18 different fungal species were isolated from all subjects. A dozen of mycelial fungi were isolated from the environment of animals, followed by 8 different species obtained from animals, and 11 cultivated from their owners. The most prevalent organisms were *Alternaria* fungi (47.37%). Less frequently the growth of *Aspergillus* (18.42%), *Scopulariopsis* (10.53%) and *Penicillium* (8.77%) was observed.

Common strain isolated from all investigated sources were: *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum* and *Scopulariopsis brevicaulis*. And common strain isolated for pets and their owners were excluding those mentioned species above also *Alternaria diathicola* and

Geotrichum candidum.

Discussion and conclusions. Isolated fungi can colonize skin and mucous membranes of both animals and humans without symptoms, but they can also give rise to a hypersensitivity reaction or infection (Jahnz-Różyk et al. 2008). According Dudkiewicz and Górny (2002) people working with the animals belong to a group of people more predisposed to fungal diseases. Dutkiewicz et al. (1994) also reported an increased incidence of fungal spores in the areas where animals were housed. Among pets asymptomatic carriers of potentially pathogenic fungi poses a serious risk for human health. The problem of fungal infections is not only the health problem of animals or their optimal efficiency and aesthetics. Fungi has low specificity for the host, and high resistance to adverse environmental factors. Zoonotic fungal infections pose a significant threat not only for people who permanently present in the environment of animals, but also those who have contact with animals sporadically (Błaszczak and Dworecka-Kaszak 2008). As demonstrated in the work also people can be a potential source of infection such as yeast for animals.

As conclusions:

- 1 Pets and their environment are the natural reservoir of many potentially pathogenic fungal species.
- 2 The most prevalent organisms were mycelial fungi from *Alternaria* genus.

Błaszczak B., Dworecka-Kaszak B. 2008. Dermatofitoza odzwierzęca – opis przypadku. *Mikologia Lekarska*, 15(2): 119-122.

Casadevall A. 2007. Accidental virulence, cryptic pathogenesis, martians, lost hosts, and the pathogenicity of environmental microbes. *Eukaryotic Cell* 6: 2169-2174.

De Hoog G.S., Guarro J., Gene J., Figureas M.J. 2000. *Atlas of Clinical Fungi*. Ed. 2. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht/Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain.

Dutkiewicz J., Górny R.L. 2002. Biologiczne czynniki szkodliwe dla zdrowia – klasyfikacja i kryteria oceny narażenia. *Medycyna Pracy*, 53(1): 29-39.

Dutkiewicz J., Pomorski Z.J.H., Sitkowska J., Krysińska-Traczyk E., Skórska C., Prażmo Z., Cholewa G., Wójtowicz H. 1994. Airborne macroorganisms and endotoxins in Animals house. *Grana*, 33: 85-90.

Dworecka-Kaszak B. 2008. *Mikologia weterynaryjna*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.

Jahnz-Różyk K., Jutel M., Bogacka E., Hoffman T., Bożek A. 2008. Dyskusja. Trudności w diagnostyce i terapii alergii na pleśnie. *Merkuriusz Lekarski*, XXIV, (Suplement 1): 30-31.

Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. 2011. *Mikrobiologia*. Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 57-63.

Shoham S., Levitz S.M. 2005. The immune response to fungal infections. *British Journal of Haematology* 129: 569-582.

Złożone oblicza grzybów mikroskopijnych wykorzystywanych przez człowieka

Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Grzyby odgrywają istotną rolę zarówno w obiegu pierwiastków, zwłaszcza węgla, jak i w życiu człowieka. W tradycyjnych technologiach przemysłowych wykorzystywane są do wytwarzania produktów żywnościowych (serów, pieczywa, wina, piwa), leków (antybiotyków, leków steroidowych i psychotropowych), enzymów (amylaz, proteaz, lipaz, celulaz) i szeregu innych substancji ważnych z punktu widzenia zdrowia i gospodarki człowieka. Niemniej istotne jest wykorzystanie ich właściwości degradacyjnych. Niejednokrotnie grzyby chorobotwórcze dla roślin, czy będące przyczyną uciążliwych korozji biologicznych oraz znacznych strat gospodarczych, są z powodzeniem wykorzystywane do eliminacji odpadów i zanieczyszczeń, zarówno pochodzenia naturalnego, jak i ksenobiotyków. Szczególnie ważna wydaje się być możliwość ich użycia do biodegradacji substancji toksycznych, w tym związków zakłócających prawidłowe funkcjonowanie układów hormonalnych u ludzi i zwierząt - EDCs (Endocrine Disrupting Chemicals). Substancje te, występując w środowisku nawet w ilościach rzędu ppm, mogą być przyczyną wielu zaburzeń w populacjach zwierząt, jak również powodować szereg schorzeń u ludzi. Obejmują one liczne środki stosowane w ochronie roślin (DDT, alachlor, endosulfan), zanieczyszczenia pochodzenia przemysłowego (bisfenol A, nonylofenol, pentachlorofenol, antracen) a także niektóre metale ciężkie (kadm, ołów, nikiel) (Adler 2007; Lamb et al. 2014).

Do detoksykacji i całkowitego rozkładu tej grupy związków chemicznych szczególnie użyteczne są grzyby izolowane ze środowisk stale zanieczyszczanych ksenobiotykami, w których dominują mikroorganizmy zdolne do zaadaptowania się do niekorzystnych warunków otoczenia. Niemniej przydatne są drobnoustroje odpowiedzialne za korozję biologiczną materiałów budowlanych, czy niszczenie surowców i produktów pochodzenia roślinnego. Badania prowadzone w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii UŁ uwiaryściły, że szczepy grzybów z rodzajów: *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Mucor*, *Metarhizium* mogą być z powodzeniem zastosowane do eliminacji szeregu uciążliwych zanieczyszczeń, w tym związków zaliczanych do EDCs. (Krupiński et al. 2013; Słaba et al. 2013 a, b; Szewczyk et al. 2014).

W trakcie prezentacji szczególna uwaga zostanie poświęcona mechanizmom warunkującym przeżycie oraz aktywność degradacyjną grzybów — w zależności od naszego punktu widzenia wysoce niepożądaną lub bardzo użyteczną.

Praca finansowana z grantu NCN No. UMO-2011/01/B/NZ9/02898.

The complex faces of microscopic fungi applied by man

Jerzy Długoński

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, University of Łódź
12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź

Fungi play an important role in both the circulation of elements, especially carbon, as well as in human life. In traditional industrial technologies they are used for the manufacture of food products (cheese, bread, wine, beer), drugs (antibiotics, steroid drugs and psychotropic substances), enzymes (amylases, proteases, lipases, cellulases) and synthesis of a number of other substances important from the point of view of health and economy. Equally important are their degradation properties. Microorganisms, which are the cause of disruptive biological corrosion and following considerable economic losses, can be successfully applied for the elimination of waste of natural origin as well as xenobiotics removal. Particularly important seems to be the possibility of their use in the efficient biodegradation of harmful substances, including EDCs (Endocrine Disrupting Chemicals). EDCs in the environment (even in quantities of the order of ppm) can cause many deleterious effects among animal populations, as well as be a reason for a range of illnesses in humans. A list of these substances comprises a number of pesticides (DDT, alachlor, endosulfan), pollutants of industrial origin (bisphenol A, nonylphenol, pentachlorophenol, anthracene) and some heavy metals (cadmium, lead, nickel) (Adler 2007; Lamb et al. 2014)

Fungi originating from areas constantly contaminated by xenobiotics are specially useful in detoxification and total disruption of EDCs, mainly due to their ability of adaptation to unfavorable environmental conditions. Nevertheless, microorganisms involved in biological corrosion of building materials or destruction of raw materials and products of plant origin are also convenient and efficient tools in detoxification and degradation processes of this group of deleterious pollutants. Research carried out in the Department of Industrial Microbiology and Biotechnology University of Łódź (Poland) indicates that fungal strains of the genera: *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Mucor*, *Metarhizium* present a particular relevance in this respect (Krupiński et al 2013; Słaba et al. 2013 a, b; Szewczyk et al 2014).

During the presentation, special attention will be given to mechanisms responsible for survival and degradation activity of the fungi — dependent on our point of view highly undesirable or very useful.

The work was supported by a grant from the NCN. No. UMO-2011/01/B/NZ9/02898.

Adler S.R. 2007. Cellular mechanisms of endocrine disruption. In: Endocrine-Disrupting Chemicals. From basic research to clinical practice. Edited by Gore A.C. Humana Press, Totowa, New Jersey, USA, pages 135-174.

Krupiński, M., Szewczyk, R., Długoński, J., 2013. Detoxification and elimination of xenoestrogen nonylphenol by the filamentous fungus *Aspergillus versicolor*. International Biodeterioration & Biodegradation 82,

59-66.

Lamb J.C., Boffetta P., Foster W.G., Goodman J.E., Hentz K.L., Rhomberg L.R., Staveley J., Swaen G., Kraak G.V., Williams A.L. 2014. Critical comments on the WHO-UNEP state of the science of Endocrine Disrupting Chemicals – 2012. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 69, 22-40.

Słaba M., Bernat P., Nykiel J., Długoński J. 2013a. Comparative study of metal induced phospholipid modifications in the heavy metal tolerant filamentous fungus *Paecilomyces marquandii* and implications for the fungal membrane integrity. *Acta Biochimica Polonica* 60, 695-700.

Słaba M., Szewczyk R., Piatek M.A., Długoński J. 2013b. Alachlor oxidation by filamentous fungus *Paecilomyces marquandii*. *Journal of Hazardous Materials* 261, 443-450.

Szewczyk R., Soboń A., Różalska S., Dzitko K., Waidelich D., Długoński J. 2014. Intracellular proteome expression during 4-*n*-nonylphenol biodegradation by the filamentous fungus *Metarhizium robertsii*. *International Biodeterioration & Biodegradation* DOI information: 10.1016/j.ibiod.2014.04.026.

Badania nad występowaniem sztucznych ($^{134/137}\text{Cs}$) i naturalnych radionuklidów (^{40}K , ^{226}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb) w pieprzniku jadalnym

Małgorzata Drewnowska¹, Patrycja Krogul¹, Anna Śliwińska²,
Tamara Zalewska², Jerzy Falandysz¹

¹Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

²Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej, Oddział Morski w Gdyni
ul. Waszyngtona 42, 81-342 Gdynia

Pieprznik jadalny (*Cantharellus cibarius* Fr.) to popularny gatunek grzyba jadalnego w Europie i Azji. W Polsce pieprznik jadalny jest grzybem ważnym gospodarczo gdyż jest sprzedawany na rynki zagraniczne. Materiał do badań pozyskano na terenie Polski w latach 1997-2013 i z prowincji Yunnan w Chinach w 2013 roku. Zawartość ^{134}Cs , ^{137}Cs i ^{40}K badano w całych owocnikach. Grzyby starannie oczyszczano ręcznie od ciał obcych (z użyciem noża plastikowego i pędzla) lub myto i płukano w wodzie destylowanej, a następnie kolejno krótko suszono w przewiewnym miejscu w temperaturze pokojowej i do stałej masy w suszarce. Wysuszone owocniki ucierano na proszek w moździerzu porcelanowym lub agatowym. Aktywność nuklidów oznaczono metodą spektrometrii gamma z detektorem półprzewodnikowym HPGe o wydajności 18% i zdolności rozdzielczej 1.9 keV przy energii 1332 keV wraz z analizatorem. Do analizy widm rejestrowanych w 8000 kanałów stosowano oprogramowanie Genie – 2000. Wszystkie aktywności przeliczono na datę pozyskania grzybów, uwzględniając rozpad promieniotwórczy. Wyniki podano w Bq w przeliczeniu na kg masy suchej owocników – zawartość wody oznaczano grawimetrycznie po wysuszeniu próbek owocników do stałej masy w temperaturze 105°C.

Okazy pieprznika, zebrane w 2013 r. w Yunnanie w Chinach i na Pomorzu, w okolicy miejscowości Polewo (gmina Przywidz), cechowała bardzo mała

zawartość ^{137}Cs , tj. 1,2 i 4,2 Bq/kg masy suchej; m.s.), a więcej, tj. 558 Bq/kg m.s., było tego nuklidu w grzybach kupionych jesienią 2013 roku w sklepie, w Polsce. W materiale zebranym w Chinach i Polsce w 2013 r. nie wykryto ^{134}Cs . Owocniki pieprznika jadalnego zebrane na terenie kraju w latach 1997-2008 cechowała różnicowana zawartość ^{137}Cs (od 64 do 1647 Bq/kg m.s.). Pieprzniki jadalne zebrane na terenie Puszczy Darżlubskiej w roku 2000, 2001 i 2003 cechowała malejąca z upływem czasu zawartość ^{137}Cs (z 974 do 227 Bq/kg m.s.). Zawartość ^{40}K w owocnikach pieprznika jadalnego zebranego z różnych miejsc na terenie Polski w latach 1997-2013 była praktycznie taka sama dla poszczególnych miejsc i lat, a wartość wykazana dla materiału z Chin była zgodna z danymi z Polski. Niemal taka sama zawartość ^{40}K w grzybach z terenu Polski i Chin wskazuje na niezbędną K i zdolność gatunku do zachowania homeostazy K w ciele. Aktywności promieniotwórczej pochodzącej od ^{226}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb w pieprznikach nie wykryto.

Investigation of the occurrence of artificial ($^{134/137}\text{Cs}$) and natural radionuclides (^{40}K , ^{226}Ra , ^{210}Bi and ^{214}Pb) in Common Chanterelle

Małgorzata Drewnowska¹, Patrycja Krogul¹, Anna Śliwińska²,
Tamara Zalewska², Jerzy Falandysz¹

¹Faculty of Chemistry, University of Gdańsk
63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

²Institute of Meteorology and Water Management – Marine Division in
Gdynia
42 Waszyngtona St., PL-81-342 Gdynia

Common Chanterelle (*Cantharellus cibarius* Fr.), is a popular species of edible mushroom in Europe and Asia (Falandysz et al. 2012). Common Chanterelle is widely collected in Poland and is sold abroad in large quantities annually (GSO, 2010). Mushrooms can absorb and sequester in their fruit bodies various radioactive elements both of natural and artificial origin. Available data on radionuclides other than $^{134/137}\text{Cs}$ in mushrooms is far less when compared to that of stable chemical elements. Several species of mushrooms are known because of their species-specific ability to accumulate some chemical elements in fruit bodies at much greater concentration when compared to a vast number of other species examined until now (Borovička et al. 2007; Cenci et al. 2010), and this seems to apply also to the radionuclides though studies and data on this case is far less (Falandysz & Borovička 2013). Apart from the known genetic ability to accumulate certain elements by some mushrooms, other factors that can influence elements uptake include the location under study (geochemical and environmental background) as well as the year of fruit bodies emergence, especially if the element is released because of anthropogenic emissions,.

The aim of this study was to provide data on long-lived radiocesium (^{137}Cs) and some natural radioactive elements (^{40}K , ^{226}Ra , ^{210}Bi and ^{214}Pb) content of Common Chanterelle collected in Poland as well as for specimens gathered in Yunnan in China that is a distant site from the Chernobyl nuclear power plant

that collapsed in 1986. Radioactivity from ^{137}Cs and other nuclides were determined using gamma spectrometer with coaxial HPGe detector with a relative efficiency of 18% and a resolution of 1.9 keV at 1.332 MeV (with associated electronics).

Specimens of Common Chantherelle collected in year 2013 in Yunnan in China and from Pomerania at the place Pomlewo (commune Przywidz) showed very low content of ^{137}Cs , i.e. 1.2 and 4.2 Bq/kg dry matter (dm), while higher amount of 558 Bq/kg dm was noted in specimens bought from a shop in Poland in the autumn 2013. Specimens collected in 2013 in China and Poland did not contain ^{134}Cs . The Contents of ^{137}Cs in mushrooms collected in Poland in 1997-2008 fluctuated from 64 to 1647 Bq/kg dm. For specimens collected from the Puszcza Darżłubska in 2000, 2001 and 2003, the content of ^{137}Cs showed a decreasing trend from 974 to 227 Bq/kg dm. The contents of ^{40}K in specimens collected from different places in Poland in 1997-2013 was nearly the same and data for mushrooms from the China agreed well with data from Poland and this once more showed the necessity of K and the ability of species to maintain its homeostatic content in flesh. Radioactivity from ^{226}Ra , ^{210}Bi and ^{214}Pb was not detected.

Borovička J, Řanda Z, Jelinek E, Kotrba P, Dunn CE (2007) Hyperaccumulation of silver by *Amanita strobiliformis* and related species of the section *Lepidella*. Mycological Research, 111: 1339-1344.

Cenci R. M., Cocchi L., Petrini O., Sena F., Siniscalco C. & Vescovi L. 2010. Elementi chimici nei funghi superiori. I funghi di riferimento come strumento di lavoro per la bioindicazione e la biodiversità. JRC Scientific and Technical Reports. EUR 24415 IT.

Falandysz J. & Borovička J. 2013. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms – health benefits and risks. Applied Microbiology and Biotechnology, 97: 477-501.

Falandysz J., Widzicka E., Kojta A.K., Jarzyńska G., Drewnowska M., Danisiewicz-Czupryńska D., Dryżałowska A., Lenz E. & Nnorom IC. 2012. Mercury in Common Chanterelles mushrooms: *Cantharellus* spp. update. Food Chemistry, 133: 842-850.

GSO. 2010. General Statistical Office. Statistical information and elaboration, Forestry 2010, Warsaw.

Radiocez (^{137}Cs) i potas (^{40}K) w maślaku zwyczajnym

Anna Dryżałowska¹, Natalia Szylke¹, Tamara Zalewska², Anna Śliwińska²,
Jerzy Falandysz¹

¹Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

²Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej, Oddział Morski w Gdyni
ul. Waszyngtona 42, 81-342 Gdynia

Celem badań było poznanie stanu zanieczyszczenia radiocezem (^{134}Cs i ^{137}Cs) owocników maślaka zwyczajnego *Suillus luteus* (L.) S.F. Gray. Ten jadalny grzyb jest niejednakowo ceniony, ale jest chętnie zbierany przez osoby

mające łatwy dostęp do terenów leśnych w kraju.

Materiał do badań pozyskano z 40 miejsc położonych głównie w części północnej Polski w latach 1997-2008 oraz z rejonu miasta Umeå (Szwecja) w 1995 r. i miejscowości Staroje Janycha-Borysów na Białorusi w 2010 r. Zawartość $^{134/137}\text{Cs}$ i ^{40}K w zależności od rejonu pochodzenia grzybów badano w całych owocnikach lub osobno kapeluszach i trzonach. Wysuszone kapelusze, trzony lub całe owocniki ucierano na proszek w moździerzu porcelanowym lub agatowym. Badano próbki zbiorcze grzybów – na próbkę składało się od kilkunastu do kilkudziesięciu owocników. Aktywność nuklidów oznaczono metodą spektrometrii gamma z detektorem półprzewodnikowym HPGe o wydajności 18% i zdolności rozdzielczej 1.9 keV przy energii 1332 keV wraz z analizatorem. Do analizy widm rejestrowanych w 8000 kanałów stosowano oprogramowanie Genie-2000. Wszystkie aktywności przeliczono na datę pozyskania grzybów i uwzględniając rozpad promieniotwórczy. Wyniki podano w Bq w przeliczeniu na kg masy suchej owocników – zawartość wody oznaczano grawimetrycznie po wysuszeniu podróbki owocników do stałej masy w temperaturze 105°C.

Owocniki maślaka zwyczajnego z terenu kraju cechowało względnie zróżnicowana zawartość ^{137}Cs (analizy wykonane w 2013 r. nie wykazał obecności ^{134}Cs w materiale zebranym w latach 1995-2008). Maślaki krajowe zawierały ^{137}Cs w całych owocnikach ilości od ok. 140 do 2692 Bq/kg masy suchej, a kapelusze były do 3-4-krotnie silniej zanieczyszczone niż trzony. Próbkę zbiorczą maślaka znad Zatoki Botnickiej zawierały ^{137}Cs w ilości znacznie większej niż badany materiał krajowy, tj. $4921,3 \pm 46,7$ (kapelusze) i $2400,3 \pm 56,0$ Bq/kg masy suchej (trzony). Zawartość ^{137}Cs w kapeluszach i trzonach owocników maślaka zwyczajnego z okolic Rogalina (Wielkopolska) w 2008 r. wynosiła jeszcze $596,5 \pm 34,1$ i $267,1 \pm 14,3$ Bq/kg masy suchej. Niemniej w przeliczeniu na świeże grzyby (zawierające w owocnikach ok. 90 % wody) zawartość ^{137}Cs była mniejsza od tolerowanej wartości 600 Bq/kg produktu. Zawartości ^{40}K (a więc i K ogółem) w kapeluszach maślaka zwyczajnego z wszystkich zbadanych miejsc były zbliżone, ale poniżej 1000 Bq/kg masy suchej, co jest wartością mniejszą w porównaniu z niektórymi innymi popularnymi jadalnymi grzybami leśnymi.

Radiocesium (^{137}Cs) and potassium (^{40}K) in Slippery Jack

Anna Dryżałowska¹, Natalia Szyłke¹, Tamara Zalewska²,
Anna Śliwińska², Jerzy Falandysz¹

¹Faculty of Chemistry, University of Gdańsk, Gdańsk
63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

²Institute of Meteorology and Water Management – Marine Division in Gdynia
42 Waszyngtona St., PL-81-342 Gdynia

This study aimed to examine artificial radioactive cesium ($^{134/137}\text{Cs}$) contamination as well as the contents of natural radioactive isotope ^{40}K of fruit bodies of Slippery Jack *Suillus luteus* (L.) S.F. Gray collected in Poland. This edible mushroom is less valued compared to many other species but is widely

collected by mushroom lovers who have easy access to forested areas.

The fruit bodies were collected from 40 places mainly from the northern part of Poland in 1997-2008; from the city of Umeå and its outskirts in Sweden in 1995 and from a site near Staroje Janycha – Borysów, Belarus in 2010. Fruit bodies were cleaned-up from adhered debris and air-dried, and further dried at 65 °C to constant weight. Mushrooms, whole fruit bodies or the caps and stalks separately, were pulverized in porcelain mortar to fine powder and kept until analysis in brand new sealed polyethylene bags under dry conditions. Before analysis each individual samples from each of the studied locations were pooled to make a composite samples that consisted of many caps, stalks or whole fruit bodies per place and year. The pooled (composite) samples consisted of 13 to 33 fruit bodies (of caps, stipe or whole fruit bodies). Radioactivity from ^{137}Cs and ^{40}K were determined using a gamma spectrometer with coaxial HPGe detector with a relative efficiency of 18% and a resolution of 1.9 keV at 1.332 MeV (with associated electronics). All numerical data gained were recalculated for dried material (at 105 °C) and exact date of mushrooms collection.

Fruit bodies of Slippery Jack collected in Poland showed variable content of ^{137}Cs (determinations done in 2013 did not show any occurrence of ^{134}Cs in specimens collected in 1995-2008). The whole fruit bodies of Slippery Jack from Poland showed ^{137}Cs at 140 to 2692 Bq/kg dry matter, while caps were from 3 to 4-fold more contaminated than stalks. The content of ^{137}Cs in the composite samples of this mushroom collected in Umeå (near the Bay of Bothnia) in Sweden in 1995 was substantially higher when compared to specimens from Poland, i.e. with mean values of 4921.3 ± 46.7 Bq/kg (caps) and 2400.3 ± 56.0 Bq/kg (stalks) dry matter. The Slippery Jack specimens collected near Rogalin (Wielkopolska land) in 2008 still contained ^{137}Cs at 596.5 ± 34.1 (caps) and 267.1 ± 14.3 Bq/kg (stalks) dry matter, while specimens from Staroje Janycha-Borysów place in Belarus (collected in 2010) showed 317.3 ± 7.6 and 238.0 ± 5.6 Bq/kg dry matter. Nevertheless, when expressed on product fresh weight basis (moisture content of fruit bodies assumed at 90%) the degrees of specimens' contamination with ^{137}Cs were below the limit of tolerance of 600 Bq/kg. The content of ^{40}K (and also the total K) in caps of the Slippery Jack from all sites examined were similar and were less than 1000 Bq/kg dry matter and these values were lower when compared to that of certain other popular edible wild-grown mushrooms.

Grzybnice zwierząt – aktualne problemy

Bożena Dworecka-Kaszak

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny
Weterynaryjnej, ul. Ciszewskiego 8, 02-784 Warszawa
bozena_kaszak@sggw.pl

Zakażenia grzybnice występują powszechnie na całym świecie, a zwierzęta mogą być źródłem zakażenia dla człowieka. Grzybnice klinicznie są klasyfikowane z uwzględnieniem tkanki, którą początkowo kolonizują. Większość z nich stanowią grzybnice skóry, głównie dermatofity. W Polsce

najczęściej z przypadków grzybicy dermatofitowej u zwierząt izoluje się grzyby z gatunków *Trichophyton mentagrophytes* i *Microsporum canis*, ale zakażenia skóry powodowane przez saprofityczne grzyby strzępkowe, np. *Alternaria alternata*, zwłaszcza u koni stają się nowym problemem klinicznym. Jak wynika z dostępnej literatury światowej zakażenia grzybami drożdżopodobnymi z rodzaju *Malassezia* są najczęstszą przyczyną zapalenia skóry i zewnętrznego przewodu słuchowego u psów, zwykle w zakażeniach mieszanych grzybiczo-bakteryjnych, choć ich znaczenie i związek z atopowym zapaleniem skóry (AZS) są często bagatelizowane. W ciągu ostatnich lat obserwuje się jednak wzrastającą częstość izolacji z zapalenia ucha zewnętrznego lub powierzchownego zapalenia skóry grzybów z rodzaju *Candida*, co powoduje, że teraz częstość izolacji grzybów z rodzaju *Candida* i *Malassezia* u zwierząt towarzyszących jest na podobnym poziomie. Zakażenia grzybicze opisywane są u wielu różnych gatunków zwierząt na świecie, a u płazów są obecnie jedną z najważniejszych przyczyn wymierania tych zwierząt. Najbardziej niebezpieczne dla płazów są zakażenia *Batrachochytrium dendrobatidis*, *Saprolegnia ferax* lub *Fonsecaea pedrosoi*. Te grzyby płazów są tak powszechne i rozprzestrzeniają się tak szybko, że są nazywane „katastrofą ekologiczną”. Wśród doniesień o grzybicach systemowych występujących u zwierząt w Polsce nie opisano jak dotąd grzybic wywoływanych przez dimorficzne endemity, takich jak histoplazmoza, sporotrychoza, blastomykoza i kokcydioidomykoza, ale istnieje wiele gatunków grzybów, których potencjalna rola jako czynnika etiologicznego grzybic jest nadal niewyjaśniona.

Mycoses in animals – actual problems

Bożena Dworecka-Kaszak

Warsaw University of Life Sciences-SGGW, Faculty of Veterinary Medicine
8 Ciszewskiego St., PL-02-784 Warszawa; bozena_kaszak@sggw.pl

Mycoses are common on over the world and some infections identified in humans may originate from animals. In fungal disease nomenclature, the name of the tissue frequently infected by the fungi determines the name of the associated disease, e.g., skin infections are called dermatophytoses. In Poland, *Trichophyton mentagrophytes* and *Microsporum canis* are the most common animal ringworms. Skin infection due to saprophytic mycelial fungi such as *Alternaria alternata*, especially in horses has become a new clinical problem. *Malassezia* infections are the most frequent skin mycoses of dogs, although their role and connection with atopic dermatitis (AD) is often understated. The number of companion animal skin infections such as otitis or superficial dermatitis caused by *Candida* species has lately increased significantly and now the frequency of *Candida* isolations is on a similar level as *Malassezia*. Fungal infections in amphibians are now one of the most important reasons of extinction of these animals. In these species, the most dangerous infections are *Batrachochytrium dendrobatidis*, *Saprolegnia ferax* or *Fonsecaea pedrosoi*. Amphibian mycoses are so common and spread so fast, and have now been

proclaimed an "ecological catastrophe." There is no report of histoplasmosis, sporotrichosis, blastomycosis and coccidioidomycosis among animals in Poland. The etiological role of many fungal species is still misunderstood.

Wartości odżywcze i lecznicze grzybów: spojrzenie na składniki mineralne

Jerzy Falandysz

Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

Ludzie zbierają, uprawiają i jedzą grzyby niemal w każdym rejonie świata, a spożywane ilości i struktura spożycia siłą rzeczy różnią się pomiędzy społeczeństwami, nacjami i państwami. Grzyby poza cenionymi cechami sensorycznymi (zapach, smak, tekstura) są również uznawane za źródło białka, witamin czy składników mineralnych oraz gdzieś tam są wykorzystywane w tradycyjnej medycynie ludowej. Niemniej należy pamiętać, że dla poznania wartości odżywczych i leczniczych grzybów czy nowych produktów otrzymywanych z grzybów (nutraceutyki) wymagane jest zintegrowane podejście, które łączy wszelkie informacje związane z korzyściami oraz możliwym ryzykiem dla zdrowia człowieka płynącymi z spożywania grzybów.

Popularne jadalne gatunki grzybów poza składnikami odżywczymi mogą zawierać szkodliwe pierwiastki metaliczne i metaloidy takie jak Cd, Hg, Pb, Sb i As, radionuklidy i związki organiczne. Typowym przykładem jest wykrycie niedawno rakotwórczych fenylohydrazyn (agarytyna) w niektórych grzybach *Agaricus*. Brak jest informacji o składzie chemicznym substancji odpowiedzialnej za zatrucia po spożyciu owocników *Tricholoma equestre* (= *T. flavovirens*). Jednym z problemów jest jakość zdrowotna grzybów zbieranych w miejscach, gdzie podłoże glebowe jest zanieczyszczone pierwiastkami metalicznymi i metaloidami pochodzącymi z emisji przemysłowych, procesów spalania, stosowania agrochemikaliów lub katastrof jądrowych albo stosowanie niewłaściwego podłoża (zanieczyszczonego substancjami toksycznymi) i pestycydów w uprawie grzybów.

Ilość i jakość informacji na temat składu chemicznego grzybów systematycznie wzrasta a mniej jest informacji o przyswajalności substancji mineralnych zawartych w posiłkach grzybowych czy wpływie przetwarzania kulinarnego na możliwe przekształcenia chemiczne oraz ubytek składników podczas przetwarzania kulinarnego.

Nutritional and medicinal values of mushrooms: focus on minerals

Jerzy Falandysz

Faculty of Chemistry, University of Gdańsk
63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

People are collecting mushrooms (Macromycetes) from the wild, cultivate them and eat them and use in herbal medicine everywhere in the world though the rates and patterns differ per society, nation and country (Chang 2006). Mushrooms, apart from the valued organoleptic values (flavor, taste, texture) are considered also as nutritional source of proteins, vitamins, mineral

constituents and fatty acids and are used in traditional herbal medicine somewhere (Kalač 2009; Sullivan et al. 2006). Nevertheless, it should be kept in mind that to the understanding of nutritional and medicinal value of mushrooms and any other new products obtained from them (nutraceuticals or dietary supplements), the only option is an integrated approach that combines information about all aspects related to benefits and possible risk of their intake to human health.

A well-known edible mushroom species apart from the nutritional components can contain also hazardous metallic elements and metalloids such as Cd, Hg, Pb, Sb, As (Falandysz and Borovička 2013; Gucia et al. 2012) radionuclides and organic substances. A typical example is the recent discovery carcinogen phenylhydrazines (agaritine) in some *Agaricus* spp. (Andersson and Gry, 2004). Unknown is compound that caused poisonings after eating fruit bodies of *Tricholoma equestre* (= *T. flavovirens*) (Chodorowski et al. 2003). One of the health problems of edible mushrooms collected from wild is the soil pollution with various metallic elements and metalloids due to their industrial emissions, combustion and use of agrochemicals and nuclear accidents or use of unsuitable substrates (contaminated with toxic agents) and pesticides in mushrooms cultivation.

Amount and quality of data on major and minor components of potential nutritional and medicinal value that are contained in flesh of various mushrooms is highly growing in recent years, while little or nothing is known on rates of digestibility and bioavailability of mineral compounds from the mushroom meals as well as on possible transformations and/or loss of substances during cooking and industrial processing of mushrooms.

Andersson HC, Gry, J. 2004. Phenylhydrazines in the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) - occurrence, biological properties, risk assessment and recommendations. *TemaNord*, 2004: 558

Chang S-T. 2006. The world mushroom industry: Trends and technological development. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 8, 297-314.

Chodorowski Z, Anand J, Grass M. 2003. Acute poisoning with *Tricholoma equestre* of five-year old child. *Przegląd Lekarski* 60: 309-310.

Falandysz J., Borovička J. 2013. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms – health benefits and risks. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97: 477-501.

Gucia M., Jarzyńska G., Rafał E., Roszak M., Kojta A., Osiej I., Falandysz J. 2012. Multivariate analysis of mineral constituents of edible Parasol Mushroom (*Macrolepiota procera*) and soils beneath fruiting bodies collected from Northern Poland. *Environmental Science and Pollution Research*, 19: 416-431.

Kalač P. 2009. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: a review. *Food Chemistry*, 113: 9-16.

Pharmacopoeia. 2010. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2010. Volume I. Beijing (PRC): Chinese Pharmacopoeia Commission.

Sullivan R., Smith J.E., Rowan N.J. 2006. Medicinal mushrooms and cancer therapy. Translating a traditional practice into western medicine.

**Pierwiastki promieniotwórcze (^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{40}K , ^{226}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb)
w grzybie płachetka kołpakowata *Cortinarius caperatus***

Jerzy Falandysz¹, Tamara Zalewska²

¹Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

²Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej, Oddział Morski w Gdyni
ul. Waszyngtona 42, 81-342 Gdynia

Celem badań było z jednej strony poznanie stanu zanieczyszczenia radiocezem ($^{134/137}\text{Cs}$) owocników płachetki kołpakowatej *Cortinarius caperatus* ze stanowisk w kraju, a z drugiej poznanie zawartości naturalnych pierwiastków promieniotwórczych, takich jak ^{40}K , ^{226}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb oraz pozyskanie informacji o współbieżności lub jej braku we wchłanianiu przez grzybnie i wiązaniu w owocnikach radiocezu i potasu.

Materiał do badań pozyskano w latach 2001-2010 z 26 miejsc zlokalizowanych w północnej części Polski. Próbkę zbiorczą owocników (analizowano osobno kapelusze i trzony albo całe owocniki) w zależności od miejsca skąd pochodziły płachetki tworzyło od 15 do 152 okazów.

Aktywność promieniotwórczą badanych pierwiastków oznaczono metodą spektrometrii gamma z zastosowaniem detektora półprzewodnikowego HPGe o wydajności 18% i zdolności rozdzielczej 1.9 keV przy energii 1332 keV wraz z analizatorem. Analizę widm rejestrowanych w 8000 kanałach prowadzono z zastosowaniem oprogramowania Genie – 2000. Wszystkie aktywności przeliczono na datę pozyskania materiału grzybowego z uwzględnieniem rozpadu promieniotwórczego.

Uzyskane wyniki wskazały na dużą zawartość ^{137}Cs w owocnikach zebranych w różnych miejscach, a maksymalną aktywność, tj. 18096 ± 138 Bq/kg suszu zanotowano dla kapeluszy owocników płachetki zebranych w Puszczy Napiwodzko-Ramuckiej w 2002 r. Z kolei okazy zebrane na Mazowszu (gmina Olszewo-Borki) w 2007 r. cechowała aktywność od ^{137}Cs na poziomie 12824 ± 99 Bq/kg suszu, a kapelusze okazów z Borów Tucholskich z 2010 r. – rzędu 5563 ± 58 Bq/kg suszu. W grzybach nie wykryto ^{134}Cs , który prawdopodobnie zanikł w wyniku rozpadu promieniotwórczego w trakcie przechowywania próbek albo tego nuklidu już nie było w świeżo zebranym materiale.

Kapelusze płachetki cechowała większa od 1,4 do 3,3 razy zawartość ^{137}Cs niż trzony a zawartość ^{40}K była niemal jednakowa w tych obu częściach owocników, a zarazem była podobna dla okazów z różnych miejsc i zebranych w różnych latach. Uzyskane dane wskazują wyraźnie, że wchłanianie przez grzybnie i los ^{137}Cs (i cezu stabilnego) w owocnikach grzybów jest inny niż ^{40}K (i stabilnego K) i nie jest to proces współzależny.

W owocnikach płachetki także wykryto aktywność od ^{226}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb , a aktywność od ^{226}Ra w kapeluszach sięgała do 650 Bq/kg suszu, a od ^{210}Bi i ^{214}Pb odpowiednio do 130 i 140 Bq/kg suszu.

**Radioactive elements (^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{40}K , ^{226}Ra , ^{210}Bi and ^{214}Pb)
in Gypsy *Cortinarius caperatus* mushroom**

Jerzy Falandysz¹, Tamara Zalewska²

¹Faculty of Chemistry, University of Gdańsk,
63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

²Institute of Meteorology and Water Management – Marine Division in
Gdynia, 42 Waszyngtona St., PL-81-342 Gdynia

Edible wild-grown mushrooms in Europe after Chernobyl nuclear accident in 1986 were substantially contaminated with radioactive elements (Baldini et al. 1990; Falandysz and Borovička, 2013). This study aimed to examine the status of artificial radioactive element such as radiocesium ($^{134/137}\text{Cs}$) and its possible relations with naturally occurring radioactive isotope of potassium (^{40}K) in fruit bodies of Gypsy *Cortinarius caperatus* mushroom collected in 2001-2010 at 20 spatially distant sites in the northern part of Poland. Similarly the status of ^{226}Ra , ^{210}Bi and ^{214}Pb from the natural uranium-radium decay chain were examined. *C. caperatus* was reported as species abundant in ^{137}Cs sequestered in fruit bodies after Chernobyl nuclear accident (Byrne 1986; Strandberg 2004).

Fresh mushrooms, after clean-up with a plastic knife from any visible plant vegetation and soil debris, were initially air-dried for 2-3 days. Further the specimens were separated into two parts – the cap with skin and stipe – and dried at 65 °C to constant weight. In two cases whole fruit bodies were used for analysis. Dried mushrooms were pulverized in an agate mortar and kept in brand new sealed polyethylene bags under dry conditions. All specimens (cap, stipe and whole fruit bodies) from any given place were pooled and subjected to analysis of radioactive elements. Radioactivity from ^{137}Cs and other nuclides were determined using gamma spectrometer with coaxial HPGe detector with a relative efficiency of 18% and a resolution of 1.9 keV at 1.332 MeV (with associated electronics).

The results of the radionuclides content of the fruit bodies of *C. caperatus* indicated high contamination with ^{137}Cs at various places with values as high as 18096 ± 138 Bq/kg dry matter in caps of specimens collected from Puszcza Napowidzko-Ramucka (collected in 2002), 12824 ± 99 Bq/kg dry matter in caps of specimens from Mazowsze land at Olszewo-Borki (collected in 2007); and 5563 ± 58 Bq/kg dry matter in caps of specimens from Bory Tucholskie (collected in 2010). The fruit bodies of *C. caperatus* in this study were free of ^{134}Cs which probably decayed in fungal material during storage for several years (measurements were made in 2013) or were absent in mushrooms collected most recently. The caps of *C. caperatus* showed from 1.4 to 3.3 greater contents of ^{137}Cs than the stipe, while content of ^{40}K was equally distributed in these two morphological parts of fruit bodies and this clearly shows that ^{137}Cs (and stable Cs) is not absorbed as ^{40}K (and stable K) is absorbed and sequestered in fruit bodies by *Macromycetes*. Also ^{226}Ra , ^{210}Bi

and ^{214}Pb were detected in *C. caperatus* and the activity from ^{226}Ra in the caps was up to 650 Bq/kg dry matter, and up to 130 and 140 Bq/kg dry matter respectively from ^{210}Bi and ^{214}Pb .

Baldini E, Nyatemu K, Tubertini O. 1990. $^{137}\text{Cs}/^{134}\text{Cs}$ anomalous ratios in organic soils and mushrooms affected by Chernobyl pollution. *Radiochimica Acta* 49: 49-51.

Byrne A.R. 1988. Radioactivity in fungi in Slovenia, Yugoslavia, following the Chernobyl accident. *Journal of Environmental Radioactivity* 6: 177-183.

Falandysz J, Borovička J. 2013. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms – health benefits and risks. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97: 477-501.

Strandberg M. 2004. Long-term trends in the uptake of radiocesium in *Rozites caperatus*. *Science of the Total Environment* 327: 315-321.

Wpływ porażenia przez rdzę brunatną *Puccinia recondita* f.sp. *Secalis* na ilość i jakość plonu żyta ozimego

Karolina Felczak*, Małgorzata Schollenberger, Wojciech Wakuliński
Samodzielny Zakład Fitopatologii

Wydział Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa; *karolina_felczak@sggw.pl

Najbardziej szkodliwym grzybem chorobotwórczym w uprawie żyta jest *P. recondita* f.sp. *secalis*. W wyniku wystąpienia rdzy brunatnej na uprawach żyta odnotowywane są straty w plonach. W trakcie prowadzenia badania obserwowano objawy porażenia roślin od stopnia średniego do silnego. Celem niniejszych badań była ocena wpływu porażenia przez rdzę brunatną *P. recondita* f.sp. *secalis* na ilość i jakość uzyskiwanego plonu. Materiałem badawczym były kłosa żyta zebrane w roku 2013 z pola uprawnego żyta ozimego w Choryni gdzie znajduje się gospodarstwo hodowlane firmy Danko. Oceniano odmiany referencyjne oraz linie wsobne żyta pod względem wielkości, kształtu oraz wypełnienia kłosów ziarniakami. Analizowano również parametry ilościowe takie jak: MTZ (masę tysiąca ziaren), liczbę kłosów, masę kłosów, liczbę ziarna oraz masę ziarna. Przeprowadzone badania potwierdziły stawiane hipotezy badawcze, że porażenie rdzy znacznie wpłynęło na obniżenie plonu ziarna oraz MTZ. Silna infekcja doprowadziła do wczesnego zasychania roślin i ich zamierania. Zebrane ziarniaki w porównaniu do ziarniaków z odmian referencyjnych były mniejsze, pomarszczone oraz zniekształcone co spowodowane było silnym porażeniem

roślin przez rdzę brunatną żyta.

Impact of winter rye infection by leaf brown rust (*Puccinia recondita* f.sp. *Secalis*) in quantity and quality yield

Karolina Felczak*, Małgorzata Schollenberger, Wojciech Wakuliński

Warsaw University of Life Sciences

166 Nowoursynowska St., PL-02-787 Warszawa; *karolina_felczak@sggw.pl

Rye (*Secale cereale* L.) is a cereal species grown in many countries of Central, Eastern and Northern Europe. This crop presents a wide range of tolerance to abiotic stresses (cold, salt, aluminium) (Smolik et al. 2012). The leaf rust is one of the most common airborne disease of rye and appears regularly in all rye-growing regions. *Puccinia recondita* f.sp. *secalis* has sexual reproduction which starts on the alternate hosts *Anchusa* spp. and *Echium* spp. These wild plants are frequently found adjacent to crop fields. (Miedaner et al. 2012). Economically important rye cultivars are highly susceptible to leaf brown rust – *Puccinia recondita* f.sp. *secalis*. The grain yield losses from the brown rust infection increased up to 39% and even up to 60-80% in the case of an early strong epidemic (Solodukhina and Kobylanskiy, 2003). In continental climates the epidemics of rye leaf rust start much earlier and cause yield losses up to 40% (Miedaner et al. 2012). In Poland and Germany epidemic occurrence of the rust on crops caused yield losses ranging from 14 to 29% (Räder et al. 2007). The occurrence of rust in late May and early June, depending on the rye genotype, brought a reduction of 1000 grains from 11 to 27% (Miedaner and Sperling 1995).

The objective of this study were to: (1) the evaluation of the response of rye inbred lines to infection by brown rust under field condition in two localities, province of Great Poland and West Pomeranian Voivodeship (2) determination the basic parameters of qualitative and quantitative of yield (the number and weight of rye ears, number of grains per ear, weight of a thousand grains) from one localities, province of Great Poland - Choryń.

The plant infection was scored based on a scale from 0, health plants to 5, severely infected plants (Zamorski et al. 2001). Most of inbred lines were very susceptible to infection by *Puccinia recondita* f. sp. *secalis*, so disease index 5 reached. Infected plants were collected in order to create a collection of infected rye plants. In the laboratory tests the weight and number ears of rye were evaluated. Also the qualitative and quantitative parameters of the selected ears trials collected from inbred lines and reference cultivars were determined. One of the parameter was the size, shape and number of grains per single ear. The main quantitative parameter was the weight of a thousand grains. Level of infection of leaf brown rust seriously affected the grain yield and weight of thousand grain. Obtained results showed that the weight of a thousand grains decreased with increasing level of rust infection. Also a high degree of rust infection caused the reduction of ears weight. However, this rule has not been confirmed in some of the analysed trials. In the case of the size ears from reference cultivars and DIL lines observed significant differences in terms of

size and grain filling of ears. Also, such a relationship was noticed for weight of grain obtained from the ears. The ears of reference cultivars were much larger and a fully filled with grain. That grains from the reference cultivars were well developed with normal straw color. In contrast, grains of other genotypes were smaller, deformed and wrinkled. Degree of leaf brown rust infection significantly influenced the reduction of grain yield and quality parameters.

Miedaner T., Klocke B., Flath K., Geiger H.H., Weber W.E., 2012. Diversity, spatial variation and temporal dynamics of virulences in the German of leaf rust (*Puccinia recondita* f.sp. *secalis*) population in winter rye. Eur J. Plant Pathol 132: 23-35.

Miedaner T., Sperling U., 1995. Effect of leaf rust on yield components of winter rye hybrids and assessment of quantitative resistance. Journal of Phytopathology, 143 (11-12): 725-730.

Räder T., Racca P., Jörg E., Hau B., 2007. PUCREC/PUCTRI - a decision support system for the control of leaf rust of winter wheat and winter rye. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 37: 378-382.

Smolik M., Cieluch P., Mazurkiewicz-Zapałowicz K., 2012. Morphological and cytological response of selected recombinant inbred lines of rye (*Secale cereale* L.) to nutrient deprivation stress assessed at the seedling stage. Not Bot Horti Agrobi, 40 (1): 282-289.

Solodukhina O.V., Kobylanskyj V.D., 2003. Problems of winter rye breeding for resistance to leaf and stem rusts. Plant Breeding and Seed Science 48 (2/2): 87-96.

Zamorski Cz., Nowicki B., Wakuliński W., M. Schollenberger, 2001. Źródła odporności na rdzę żółtą, rdzę brunatną i rdzę żółtą w polskich materiałach hodowlanych pszenicy. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin. 218/219:137-145.

Grzyby termooporne – znaczenie, charakterystyka, perspektywy badań

Magdalena Frąc

Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk

ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27

tel.: 81 744 50 61; m.frac@ipan.lublin.pl

Sektor owoców miękkich, a szczególnie produkcja truskawek, pełni bardzo ważną rolę w produkcji rolniczej i ogrodniczej nie tylko w Polsce, ale i na świecie. Z danych statystycznych wynika, że Polska z produkcją truskawek na poziomie 181,9 tys. ton należy do największych producentów tego surowca, zaraz po Hiszpanii (300,9 tys. ton), a razem z Turcją (186,1 tys. ton), Włochami (161,0 tys. ton) i Niemcami (130,9 tys. ton). Dlatego też produkcja wysokiej jakości surowca jest kluczowa zarówno w przetwórstwie krajowym, jak też eksportowym. Doniesienia literaturowe oraz niepublikowane badania własne wskazują na pojawiający się problem skażenia owoców miękkich,

zwłaszcza truskawek i ich przetworów, grzybami termoopornymi, które mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi.

Grzyby termooporne są często czynnikami powodującymi psucie produktów poddanych obróbce termicznej, zwłaszcza produktów owocowych. Do najbardziej niebezpiecznych i pojawiających się dość często w doniesieniach literaturowych należą: *Neosartorya fischeri*, *Byssoschlamys fulva* i *Talaromyces flavus*. Zanieczyszczenie surowców rolniczych jest często wynikiem ich kontaktu z glebą, będącą źródłem tych patogenów. Surowce zanieczyszczone przez grzyby termooporne są potencjalnym zagrożeniem dla konsumentów poprzez produkcję toksycznych metabolitów (mykotoksyn). Z powodu odporności na wysoką temperaturę grzyby termooporne są w stanie przetrwać proces pasteryzacji przemysłowej. Dlatego też, jedynym skutecznym sposobem eliminacji tych patogenów jest odpowiednie selekcjonowanie surowców rolniczych. Tradycyjne metody wykrywania grzybów termoopornych, ze względu na długotrwałe procedury badawcze, nie znajdują zastosowania podczas selekcjonowania surowca, dlatego też ważnym narzędziem badawczym w kierunku ich wykrywania może okazać się dopracowanie technik biologii molekularnej, które umożliwiłyby detekcję patogenów bez konieczności ich hodowli w warunkach laboratoryjnych. Konieczne jest również rozwijanie badań z zakresu występowania oraz charakterystyki molekularnej i metabolicznej grzybów termoopornych w celu zmniejszenia zagrożenia dla zdrowia ludzi. Z punktu widzenia praktycznego i zapobiegania rozwojowi tych patogenów ważne są również badania w kierunku mechanizmu ich termooporności i wrażliwości chemicznej w celu opracowania metod ich zwalczania oraz poszukiwanie markerów termooporności i badanie ekspresji genów kodujących termooporność tych grzybów.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki (Polska), project: DEC-2012/07/D/NZ9/03357.

Heat resistant fungi – importance, characteristics, research perspectives

Magdalena Frąc

Institute of Agrophysics of Polish Academy of Sciences

4 Doświadczalna St., PL-20-290 Lublin 27

phone: 81 744 50 61; m.frac@ipan.lublin.pl

Soft fruit sector, especially the production of strawberries, play a very important role in the agricultural and horticultural production, not only in Poland but around the world. Statistics show that Poland strawberry production rate of 181.9 thousand tons of fruit, and Spain (300.9 thousand tons), and together with Turkey (186.1 thousand tons) and Italy (161.0 thousand tons) is the largest fruit of this species in Europe. Another place falls to Germany, which provide an average of 130.9 thousand tons of this species fruit. Therefore, the production of high quality raw material is essential in the processing of both domestic as well as export. Literature and our studies (not published) indicate the emerging problem of contamination of soft fruit,

especially strawberries and their products by heat-resistant fungi, which can pose a threat to human health.

Heat-resistant fungi are often factors causing spoilage of heat-processed products, especially fruit. The most dangerous and often isolated heat-resistant fungi are the following: *Neosartorya fischeri*, *Byssosclamyces fulva* and *Talaromyces flavus*. Contamination of agricultural raw materials is often as a result of their contact with the soil. Materials contaminated by spores of heat-resistant fungi can be a risk to consumers' health by toxic metabolites (mycotoxins) produced by these microorganisms. Due to the resistance of the fungus to high temperatures they are able to survive the industry pasteurization process. Therefore, the only way to prevent the development of these microorganisms in the product is suitable selecting material by conducting tests for the presence of heat-resistant fungi. The use of traditional culture methods is long and, therefore, does not apply in the selecting raw materials for production. However, time is a critical factor in assessing the acceptance or rejection of a given batch of raw material, due to the necessity of processing the raw material fresh, which is very important especially in the case of fruit such as strawberries. Due to the sparse literature on rapid detection techniques for heat-resistant fungi in agricultural raw materials in recent years researchers are looking for methods, effective in the detection of these pathogens. It is necessary to develop the study including characterization of occurrence, molecular and metabolic characterization of heat-resistant fungi to decrease the risk for human health. From a practical point of view, and prevent the development of these pathogens research on the heat-resistance mechanism and chemical sensitivity of heat-resistant fungi are also important to develop destruction methods of them. The research on look for heat-resistance markers and study the expression of genes encoding heat-resistance of these fungi are very necessary.

The study was supported by National Science Centre (Poland), grant: DEC-2012/07/D/NZ9/03357.

**Produkcja korzeni drobnych i stan mykoryzy topoli białej
(*Populus alba* L.) w zbiorowiskach leśnych, w dorzeczu Dolnej Wisły**

Anna Frymark-Szymkowiak*, Natalia Głowska,

Barbara Kieliszewska-Rokicka

Katedra Mikologii i Mikoryzy, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w
Bydgoszczy, al. Ossolińskich 12, 85-093 Bydgoszcz; *afrymark@ukw.edu.pl

Topola biała (*Populus alba* L.) stanowi naturalny element łągów wierzbowo-topolowych zachowanych w nielicznych fragmentach w dolinach wielkich rzek, w tym w dolinie Dolnej Wisły, gdzie występuje razem z innymi gatunkami łągowymi (takimi jak: topola czarna, wierzby, wiąz, jesion, olcha). Coroczne wylewy wód powodziowych, kształtują specyficzne warunki życia organizmów występujących w naturalnych lasach łągowych. Regulacja rzek, prace melioracyjne, budowa wałów przeciwpowodziowych oraz zapór na rzekach powodują stałe obniżanie się poziomu wód gruntowych i znaczne

ograniczenie wylewów, co przyczynia się do zmian składu gatunkowego zbiorowisk roślinnych i zanikania typowych siedlisk zalewanych. Niewiele wiadomo o wpływie zmian warunków wodnych na rozwój systemu drobnych korzeni topoli i związanych z nimi symbiontów mykoryzowych.

Celem badań było porównanie produkcji korzeni drobnych oraz stanu mykoryzy topoli białej, występujących na trzech stanowiskach: 1. „Wielka Kępa Ostromecka” – rezerwat przyrody, naturalny las łęgowy okresowo zalewany; 2. „Ostrów Panieński” – rezerwat przyrody, naturalny las łęgowy, niezalewany od 1968 roku; 3. Nasadzenia topoli białej na Kępie Panieńskiej – naturalny teren zalewowy, obszar corocznie zalewany. Próby pobierano wiosną i jesienią 2011 roku z trzech poziomów gleby (0-10 cm, 10-20 cm, 20-30 cm). Wyniki wykazały, że największa długość korzeni drobnych oraz największa liczba wierzchołków występuje w najpłytszym z badanych poziomów gleby (0-10 cm), natomiast łączna długość korzeni z wszystkich analizowanych poziomów jest obserwowana na stanowiskach zalewanych. Na wszystkich badanych stanowiskach w górnych warstwach profilu glebowego stwierdzono podwójną kolonizację mykoryzową, z dominacją ektomykoryzy nad mykoryzą arbuskularną.

Fine roots production and mycorrhizal status of White Poplar (*Populus alba* L.) in riparian forests in the Lower Vistula Valley

Anna Frymark-Szymkowiak*, Natalia Głowska,

Barbara Kieliszewska-Rokicka

Department of Mycology and Mycorrhiza

Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz

12 Ossolińskich Av., PL-85-093 Bydgoszcz; *afrymark@ukw.edu.pl

White Poplar (*Populus alba* L.) is a natural element of Populus-Salix riparian forest preserved in a few fragments in river valleys of great rivers, including the Lower Vistula Valley, where this tree grows together with other riparian species (black poplar, willows, elm, ash, alder). The annual flooding creates specific life conditions for organisms living in natural riparian forests. Regulation of rivers, melioration, construction of flood banks and dams on rivers, cause permanent decline in groundwater levels and significant reduction of floods which contribute to modifications in plant community structure and in disappearance of typical flooded habitat. Little is known about the impact of changes in water conditions on the development of poplar fine roots and associated mycorrhizal symbionts.

The aim of the study was to compare the production of fine roots and mycorrhizal status of White Poplar occurring in three locations: 1) “Wielka Kępa Ostromecka” – nature reserve, natural riparian forest seasonally flooded; 2) “Ostrów Panieński” – protected area, natural riparian forest, unflooded since 1968; 3) *P. alba* plantation, monoculture – localized on natural floodplain of Vistula River, seasonally flooded area. Samples were taken using soil cores (237,4 cm³) from three soil levels: 0-10cm, 10-20cm and 20-30cm in spring and fall of 2011. Image analysis system showed the largest length of fine roots

and the highest number of root tips in the shallowest level of the studied soils (0-10cm), while the total length of the roots from all analyzed levels, was observed in the flooded sites. Dual mycorrhizal colonization (ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal), was observed in all examined locations, with the dominance of ectomycorrhiza in the most upper soil layer.

Grzyby potencjalnie chorobotwórcze w ziemi oraz piasku parków, boisk i piaskownic

Katarzyna Góralska¹, Piotr Kurnatowski¹, Joanna Błaszewska²,
Anna Wójcik¹

¹Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Diagnostyki i Leczenia Chorób Pasożytniczych i Grzybic
Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Plac Hallera 1, 90-647 Łódź

Gleba stanowi środowisko rozwoju wielu organizmów, w tym także bakterii, grzybów i pasożytów patogennych dla człowieka. Obecność zwierząt zanieczyszczających swoimi odchodami tereny rekreacyjne dodatkowo stwarza korzystne warunki dla rozwoju grzybów z różnych grup systematycznych. Kontakt z tym środowiskiem podczas zajęć rekreacyjno-sportowych dzieci i młodzieży ułatwia transmisję grzybów do organizmu człowieka.

Celem pracy było porównanie bioróżnorodności, potencjalnie chorobotwórczych dla człowieka, drożdży, grzybów drożdżopodobnych oraz dermatofitów wyizolowanych z prób piasku i ziemi terenów rekreacji dzieci i młodzieży z Łodzi.

Badaniami objęto 17 piaskownic oraz 26 boisk i placów zabaw na terenie Łodzi. Ogółem pobrano 172 próby z powierzchniowej i głębszej (10-15 cm) warstwy gleby, w dwóch sezonach badawczych – jesiennym i letnim. Materiał posiewano na podłoża Sabourauda i z różem bengalskim. Jednocześnie zakładano test przynęty włosowej, a wykryte dermatofity pasażowano na podłożu Mycoline. Identyfikację gatunków grzybów przeprowadzono na podstawie cech morfologicznych i biochemicznych.

Drożdże i grzyby drożdżopodobne wyizolowano jesienią z 73,5% i wiosną z 58,8% zbadanych prób piasku oraz jesienią z 65,4% i wiosną z 61,5% prób ziemi placów zabaw i boisk. Wyizolowane grzyby należały do 20 gatunków z 7 rodzajów i najczęściej były to: *Trichosporon cutaneum*, *Cryptococcus neoformans* i *Rhodotorula glutinis*. Dermatofity wykryto jesienią w 14,7% i wiosną w 17,6% próbach z piaskownic oraz jesienią w 26,9% i wiosną w 48,1% próbach ziemi. Zostały one zaklasyfikowane do 8 gatunków z 5 rodzajów; dominowały *Trichophyton ajelloi* i *Microsporum gypseum*.

Wyizolowane grzyby należące do potencjalnie chorobotwórczych gatunków, zwłaszcza z drugiej klasy biobezpieczeństwa (BSL2) – *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon cutaneum*, *Microsporum gypseum*, *M. nanum*, *Trichophyton terrestre*, *T. tonsurans* i *T. schoenleinii*, mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia człowieka.

Potentially pathogenic fungi in the soil and sand parks, playgrounds and sandpits

Katarzyna Góralska¹, Piotr Kurnatowski¹, Joanna Błaszowska², Anna Wójcik¹

¹Department of Biology and Medical Parasitology, Medical University of Lodz

²Department of Diagnostics and Treatment of Mycoses and Parasitic Diseases,
Medical University of Lodz, 1 Hallera Sq., PL-90-647 Łódź

Soil is an environment of development for many organisms including bacteria, fungi and parasites pathogenic to humans. The presence of animals that with their droppings contaminate recreational areas additionally creates favorable conditions for the development of fungi from different taxonomic groups. Contact with this environment during recreation and sports activities of children and adolescents facilitates the transmission of fungi into the human body.

The aim of the study was to compare biodiversity, of potentially pathogenic for humans, yeast, yeast-like fungi and dermatophytes isolated from samples of sand and soil of recreation areas of children and adolescents in the city of Lodz.

The study included 17 sandpits and 26 sports fields and playgrounds in Lodz. In total, 172 samples were collected from the surface and deeper (10-15 cm) layer of soil in two research seasons - autumn and summer. The material was inoculated into Sabouraud and rose bengal media. At the same time bait hair test was made, and the detected dermatophytes were passaged on Mycoline medium. Identification of species of fungi was based on morphological and biochemical features.

Yeasts and yeast-like fungi were isolated of the analyzed sand samples from 73.5% in autumn and 58.8% in spring and of 65.4% in autumn and 61.5% in spring of soil samples of playgrounds and sports fields. Isolated fungi belong to 20 species of 7 genera and most often were: *Trichosporon cutaneum*, *Cryptococcus neoformans* and *Rhodotorula glutinis*. Dermatophytes were detected in 14.7% in autumn and 17.6% in spring of samples of sandpits and 26.9% in autumn and 48.1% in spring soil samples. They were classified into 8 species of 5 genera, *Trichophyton ajelloi* and *Microsporum gypseum* were dominated.

Isolated fungi belonging to the potentially pathogenic species, particularly of the second class of biosafety (BSL2) - *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon cutaneum*, *Microsporum gypseum*, *M. nanum*, *Trichophyton terrestre*, *T. tonsurans* and *T. schoenleinii*, may be a risk to human health.

Woda jako rezerwuuar diaspor grzybów lądowych

Michał Gorczak, Marta Wrzosek

Zakład Systematyki i Geografii Roślin, Wydział Biologii

Uniwersytet Warszawski, Al. Ujazdowskie 4, 00-478 Warszawa

Słodkowodne środowiska charakteryzują się stosunkowo wysoką różnorodnością grzybów. Jednak jej rozpoznanie jest nierównomierne. Dokładnie poznane grupy grzybów i organizmów grzybobodobnych nie wyczerpują całego zróżnicowania (Nikolacheva i Bärlocher 2004, Shearer et al. 2006). Większość badań opiera się na mikroskopowej obserwacji struktur rozmnażania na naturalnych substratach (np. Chan et al. 2000, Czeżuga et al. 2005). W ostatnich dwudziestu latach metody hodowlane przestały być stosowane do badania grzybów wodnych, jednak w tej pracy dowodzimy, że wciąż mogą dostarczyć danych zarówno o „imigrantach” i niektórych typowych przedstawicielach słodkowodnych mykocenoz.

Piana i materiał roślinny z dwóch strumieni z środkowej (Jeziorka) i południowej (Wilsznia) Polski został przebadany na obecność grzybów, które dają się hodować w warunkach laboratoryjnych. Izolaty rosnące na agarze słodowym były oznaczane na podstawie cech mikroskopowych lub, gdy okazało się to niewystarczające, za pomocą technik molekularnych. Uzyskano 43 izolaty z Wilszni oraz 166 z Jeziorki i przyporządkowano je do odpowiednio 20 i 27 taksonów. *Trichoderma* dominowała w próbkach piany z pierwszej rzeki, zaś *Fusarium*, *Diaporthe*, *Acremonium* oraz *Phoma* s. l. z drugiej. Grzyby ingoldowe otrzymano sześć razy, tylko z inkubowanego materiału roślinnego z Wilszni. Wiele z izolowanych grzybów uznaje się za patogeny lub endofity roślin. Znalezione rzadkie gatunki takie jak *Ophiognomonina melanostyla* i *Polyscytalina grisea*. Grzyb *Parapheospheria neglecta* jest nowy dla Polski. Zasadna wydaje się kontynuacja badań zmierzająca do sprawdzenia czy diaspora grzybów unoszące się w wodzie niosą potencjał infekcyjny.

Water as a reservoir of land fungi diaspores

Michał Gorczak, Marta Wrzosek

Department of Systematics and Plant Geography, Faculty of Biology

University of Warsaw, 4 Ujazdowskie Av, PL-00-478 Warszawa

Freshwater environments have relatively high fungal biodiversity. However its diversity is not composed of well-known groups of fungi only (Nikolacheva and Bärlocher 2004, Shearer et al. 2006). Most studies are based on microscopic observations of conidia and conidiophores on natural substrates (e.g. Chan et al. 2000, Czeżuga et al. 2005). In last twenty years cultural studies of freshwater inhabiting fungi ceased to be performed. Our work suggests that they still can provide us with valuable data on both immigrant and some typically aquatic fungi.

Foam and plant debris from two streams in central (Jeziorka) and southern (Wilsznia) Poland was analysed for the occurrence of cultivable fungi. Isolates

grown on MEA medium were identified by microscopic features or, if that proved insufficient, by molecular means. The representatives of genus *Trichoderma* and those of *Fusarium*, *Acremonium*, *Diaporthe* and *Phoma* s.l. dominated in foam from Wilsznia and Jeziorka respectively. Ingoldian fungi were obtained six times from leaves from Wilsznia only. Multiple isolated fungi are considered to be phytopathogenic or endophytic. Rare species such as *Ophiognomonina melanostyla*, *Polyscytalina grisea* were found. *Parapheospheria neglecta* is new to Poland. Studying invasive potential of water-borne diaspores is worth considering.

Chan, S. Y., Goh, T. K., & Hyde, K. D. (2000). Ingoldian fungi in Lam Tsuen River and Tai Po Kau Forest Stream, Hong Kong. *Fungal Divers*, 5, 109-118.

Czeczuga, B., Mazalska, B., Godlewska, A. & Muszyńska, E. (2005). Aquatic fungi growing on dead fragments of submerged plants. *Limnological Ecology and Management of Inland Waters*, 35(4), 283-297.

Nikolcheva, L. G., & Bärlocher, F. (2004). Taxon-specific fungal primers reveal unexpectedly high diversity during leaf decomposition in a stream. *Mycological Progress*, 3(1), 41-49.

Shearer, C. A., Descals, E., Kohlmeyer, B., Kohlmeyer, J., Marvanová, L., Padgett, D., ... & Voglymayr, H. (2007). Fungal biodiversity in aquatic habitats. *Biodiversity and Conservation*, 16(1), 49-67.

Manipulacja aktywnością szlaku mewalonowego a właściwości przeciwgrzybowe *Trichoderma atroviride*

Sebastian Graczyk, Urszula Perlińska-Lenart, Wioletta Górka-Nieć, Patrycja Zembek, Sebastian Piłsyk, Joanna S. Kruszewska
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* znane są jako organizmy wydzielające liczne enzymy hydrolityczne oraz związki o silnych właściwościach przeciwgrzybowych i antybakteryjnych. Właściwości te wykorzystywane są w procesie biokontroli.

Celem niniejszej pracy jest zwiększenie właściwości hydrolitycznych *T. atroviride*. Nasze wcześniejsze prace wskazują na związek procesu wydzielania hydrolaz z aktywnością procesu O-glikozylacji. W procesie O-glikozylacji u grzybów niezbędny jest fosforan dolicholu jako nośnik reszt cukrowych. Związek ten powstaje w szlaku mewalonowym, a kluczowym enzymem w syntezie dolicholu jest *cis*-prenylotransferaza. Zwiększenie jej aktywności może zwiększyć pulę dostępnego dolicholu w komórce. W szlaku mewalonowym powstają również inne związki: sterole, terpenoidy czy chinony, które mogłyby wpływać na właściwości biokontrolne *Trichoderma*. Postanowiliśmy zwiększyć aktywność szlaku mewalonowego poprzez zwiększenie aktywności *cis*-prenylotransferazy oraz syntazy dwufosforanu farnesylu (FPP). Szczepy *T. atroviride* niosące kopie drożdżowych genów *RER2* lub *ERG20*, kodujących odpowiednio *cis*-prenylotransferazę i syntazę

FPP otrzymane w toku naszych badań scharakteryzowano pod kątem przydatności dla biokontroli. Przeprowadzona analiza wykazała podwyższoną aktywność enzymów szlaku mewalonowego w tym *cis*-prenylotransferazy i syntazy FPP oraz zwiększoną glikozylację białek sekrecyjnych. Wydzielane enzymy hydrolityczne miały znacznie podniesioną aktywność, co spowodowało zwiększanie aktywności przeciwgrzybowej i biokontrolnej otrzymanych szczepów.

Activity of the mevalonate pathway correlates with antifungal properties of *Trichoderma atroviride*

Sebastian Graczyk, Urszula Perlińska-Lenart, Wioletta Górka-Nieć, Patrycja Zembek, Sebastian Piłsyk, Joanna S. Kruszewska
Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences
5a Pawińskiego St., PL-02-106 Warszawa

Trichoderma species are widely used as biological control agents due to their strong antagonistic activity against phytopathogenic fungi and effectiveness in promoting plant growth and defense mechanisms. Biocontrol efficiency may result from a direct interaction between the pathogen and *Trichoderma* when lytic enzymes secreted by the latter degrade the cell wall of the pathogen, causing damage of its cells.

It was observed that many, if not all, lytic enzymes secreted by *Trichoderma* were glycosylated. It was postulated that O-glycosylation of these enzymes was closely correlated with their secretion. Taking into account this correlation we improved the biocontrol abilities of *Trichoderma atroviride* P1 against plant pathogens by activation of the mevalonate pathway, where dolichyl phosphate, a carrier of carbohydrate residues in the glycosylation processes, is produced together with many other biologically active molecules, such as sterols, terpenoids and quinones. The new strains of *T. atroviride* were characterized in terms of the activity of overexpressed enzymes, protein secretion, activity of secreted hydrolases and antifungal properties. Our results showed that activation of the mevalonate pathway resulted in higher activity of dolichol-dependent glycosylation leading to hyper-glycosylation and, consequently, higher activity of secreted glycolytic enzymes. Higher activity of hydrolases resulted in improved antifungal properties of the studied new strains.

Wykorzystanie źródeł węgla przez szczep *Trichoderma* wyizolowany z osadu ścieków mleczarskich

Agata Gryta*, Magdalena Frąc**, Karolina Oszust, Anna Siczek,
Nina Bilińska

Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290
Lublin 27, tel.: 81 744 50 61, *a.gryta@ipan.lublin.pl,
**m.frac@ipan.lublin.pl

Skład mykologiczny osadów ściekowych pochodzących z oczyszczalni ścieków mleczarskich, nie jest ściśle określony. Obecność grzybów jest

potencjalnym zagrożeniem ze względu na właściwości chorobotwórcze (dermatofity, grzyby toksynotwórcze m.in. *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, oraz drożdżaki). Jednakże, zbiorowiska grzybów zasiedlających odpady charakteryzują się dużą różnorodnością fizjologiczną, która jest istotna w procesach rozkładu związków obecnych w odpadach. Dlatego też, poszukiwanie i charakterystyka metaboliczna szczepów grzybowych wyizolowanych z różnego rodzaju osadów może być cenna w opracowywaniu metod biodegradacji, czy unieszkodliwiania odpadów. Profilowanie metaboliczne grzybów jest wykorzystywane w określeniu ich uzdolnień do utylizacji i degradacji związków, występujących m.in. w organicznych materiałach odpadowych. Grzyby strzępkowe charakteryzują się specyficznym szlakiem biochemicznym wynikającym z asymilacji różnych związków, niezbędnych do produkcji metabolitów. Określenie profilu biochemicznego jest także wykorzystywane w ich identyfikacji. Zastosowanie systemu Biolog FF MicroPlate pozwala na uzyskanie „metabolicznego odcisku palca”, wyrażającego charakterystykę uzdolnień fizjologicznych szczepów grzybów wyizolowanych z różnych środowisk. Charakterystyka metaboliczna przy użyciu płytek Biolog FF opiera się na wskazaniu różnic w wykorzystywaniu przez grzyby substratów węglowych, którymi opłaszczone są studzienki w płytce. Substraty węglowe zgrupowane są w kategorie: węglowodany, kwasy karboksylowe i ketonowe, aminy i amidy, aminokwasy oraz polimery.

Celem prezentowanych badań była charakterystyka metaboliczna środowiskowego szczepu *Trichoderma atroviride* (G79/11) wyizolowanego z osadu ścieków mleczarskich, obejmująca związki należące do węglowodanów i kwasów karboksylowych. Badania miały również na celu ustalenie na czym polega różnica w wykorzystaniu poszczególnych grup substratów węglowych w ciągu 264 godzin hodowli oraz ocenę kolejności uruchamiania związków przez badany szczep *Trichoderma*.

W celu określenia profilu metabolicznego wybranego szczepu *T. atroviride* wykorzystano płytki Biolog FF Plates. Na podstawie odczytów kolorymetrycznych dokonano analizy wzrostu grzybni poprzez pomiar gęstości optycznej (OD) przy długości fali 750 nm podczas 11-dniowej hodowli, a następnie wyznaczono profil metaboliczny szczepu (AWCD oraz procentowe wykorzystanie poszczególnych substratów węglowych). W celu określenia najintensywniej wykorzystywanych związków z grupy kwasów karboksylowych i węglowodanów przeprowadzono analizę skupień.

Przeprowadzone badania wykazały, że najwyższą aktywność metaboliczną uzyskano w 72 godzinie inkubacji. Wysoki poziom kataboliczny wszystkich analizowanych związków utrzymywał się do 10 dnia prowadzenia hodowli, po czym zaobserwowano istotne obniżenie wykorzystania substratów, związane prawdopodobnie z wyczerpaniem związków odżywczych. Spośród węglowodanów N-acetylo-D-glukozaamina, maltoza, maltotrioza były najintensywniej wykorzystywane. Kolejną grupę stanowiły: β -metylo-D-glukozyd, α -D-laktoza, D-mannoza, D-fruktoza, D-galaktoza, sacharoza, arbutyna, D-trehaloza, D-melibioza, turanoza, stachioza, które wykazały niewiele niższy poziom utylizacji. Uwagę zwraca brak wykorzystania N-acetylo-D-galaktozoaminy, N-acetylo-D-mannzoaminy i m-inozytolu.

Pozostałe związki tej grupy charakteryzowały się średnim poziomem wykorzystania (A_{750} : 0,5-0,7). Większość spośród badanych kwasów karboksylowych charakteryzował bardzo niski stopień utylizacji. Intensywny katabolizm stwierdzono tylko w przypadku kwasu D-glukuronowego, kwasu 2-okso-D-glukonowego, kwasu γ -hydroksymasłowego, kwasu β -hydroksymasłowego i kwasu chinowego.

Praca naukowa finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Programu LIDER 2011-2014.

**Carbon sources utilization by *Trichoderma* strain
isolated from dairy sewage sludge**

Agata Gryta*, Magdalena Frąc**, Karolina Oszust, Anna Siczek,
Nina Bilińska

Institute of Agrophysics of Polish Academy of Sciences

4 Doświadczalna St., 20-290 Lublin 27

phone: 81 744 50 61, *a.gryta@ipan.lublin.pl, **m.frac@ipan.lublin.pl

Mycological composition of the sewage sludge from dairy wastewater treatment plant is not strictly defined. Appearance of fungi is a potential threat because of their pathogenic properties (dermatophytes, toxinogenic fungi: *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus* and yeasts). On the other hand, fungi communities characterized high physiological diversity, which is essential in processes of sediments compounds decomposition. Therefore, screening and metabolic characteristic of fungi isolated from various waste could be valuable in developing methods for biodegradable or neutralization waste. Metabolic profiling of fungi is using for assess ability to utilization and/or degradation compounds current in organic wastes. Filamentous fungi characterized the specific biochemical pathway related with assimilation various compounds indispensable for metabolites production. Evaluation of biochemical profile could be used for identification. Application the Biolog FF MicroPlate System gives the possibility to obtain “metabolic fingerprinting”, which is important for physiological characteristics of fungi isolated from environment. Metabolic characteristics using Biolog FF plates based on differences in the rate of carbon substrates utilization. Carbon substrates are subdivide into group: carbohydrates, carboxylic and ketonic acids, amines and amides, amino acids and polymers, substrates are coated on FF plate well.

The aim of present study was the metabolic characteristics of environmental species of *Trichoderma atroviride* (G79/11) isolated from dairy sewage sludge, including carbohydrates and carboxylic acids. The objective of the study was also the indication of the differences in particular substrate utilization during 264 hours of incubation.

In order to determine metabolic profile of *T. atroviride* (G79/11) Biolog FF plates were used. Based on colorimetric measurement assess mycelium growth. Optical density (OD) was measured at 750 nm wavelength during 11 day of culture. Metabolic profile was expressed as average well-colour development (AWCD), percent of utilization carbon substrates group, and cluster analysis

depending on carbohydrates and carboxylic acids utilization in FF Biolog Plate.

The study showed that the highest metabolic activity was obtained at 72 hours of incubation. High catabolic levels of all the analyzed compounds was observed until the 10th day of culture, after which there was a significant reduction in substrate utilization, probably related to depletion of nutrients. Among the carbohydrates N-Acetyl-D-Glucosamine, Maltose and Maltotriose were the most extensively used. Another group consisted of: β -Methyl-D-Glucoside, α -D-Lactose, D-Mannose, D-Fructose, D-Galactose, Sucrose, Arbutin, D-Trehalose, D-Melibiose, Turanose, Stachyose, which showed much lower levels of utilization. There was the lack of utilization of the N-Acetyl-D-Galactosamine, N-Acetyl-D-Mannosamine and m-Inositol. Other compounds in this group were characterized by a medium level of use (A750 0.5-0.7). Most of the respondents carboxylic acids characterized by a very low utilization level. Intensive catabolism was found only in the case of D-Glucuronic Acid, 2-Keto-D-Gluconic Acid, γ -Hydroxy-butyric Acid, β -Hydroxy-butyric Acid, and Quinic Acid.

Scientific work supported by National Centre of Research and Development – LIDER Programme 2011-2014.

Wpływ metali ciężkich na proces kiełkowania zarodników grzybów z rodzaju *Metarhizium*

Marta Gryzł¹, Anna Różycka¹, Sylwia Różalska², Mirosława Słaba², Jerzy Długoński²

¹Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

²Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Wstęp. Zanieczyszczenie środowiska metalami ciężkimi pochodzącymi ze źródeł antropogenicznych znacząco wzrosło w ciągu ostatniej dekady. Nadmierne ilości związków zawierających jony ołowiu, kadmu, niklu i rtęci obecne w środowisku naturalnym ograniczają prawidłowy wzrost i rozwój roślin, zwierząt i grzybów. Mikroorganizmy wchodzą w interakcje z metalami obecnymi w środowisku naturalnym lub syntetycznym i zmieniają właściwości fizykochemiczne struktur komórkowych, co wpływa na ich wzrost, aktywność i przeżywalność.

Cel pracy. Celem pracy było określenie wpływu metali ciężkich na proces kiełkowania zarodników *Metarhizium* sp.

Materiały i metody. Przygotowywano próby zawierające zawiesinę zarodników szczepów *Metarhizium* sp., do których dodawano jony metali ciężkich: Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} . Przygotowane hodowle statyczne inkubowano w 28°C przez 24 h, a następnie określano najwyższe stężenia jonów metali ciężkich, w których zarodniki były zdolne do kiełkowania. W celu wykonania dokumentacji fotograficznej pobierano 10 μ l badanych prób, umieszczano na szkiełkach makroskopowych z dodatkiem barwnika Lactophenol Blue Solution (Sigma–Aldrich). Zdjęcia wykonywano przy

zastosowaniu mikroskopu świetlnego Axiovert 200 M (Zeiss), z obiektywem Plan Neofluar (40x) przy zastosowaniu oprogramowania AxioVision (Zeiss).

Wyniki. Wszystkie badane szczepy *Metarhizium* sp. wykazywały wrażliwość na obecność badanych jonów metali ciężkich. Stwierdzono, że kiełkowanie zarodników w obecności jonów Zn^{2+} charakteryzowało się znaczną zmiennością. Najmniej wrażliwe na obecność jonów cynku w środowisku wzrostu okazały się *M. anisopliae* i *M. globosum*. Najniższą wrażliwością na proces kiełkowania zarodników w obecności jonów Pb^{2+} charakteryzują się szczepy *M. majus*, *M. acridum*, *M. anisopliae*, *M. lepidotiae*, natomiast w obecności jonów Cu^{2+} w stężeniu 5mM zdolność do kiełkowania zarodników wykazywał jedynie szczep *M. lepidotiae*. Jony Ni^{2+} oraz Cd^{2+} wykazują zbliżoną toksyczność w stosunku do wszystkich badanych szczepów. Szczepy *M. brunneum* oraz *M. globosum* wykazywały zdolność do kiełkowania przy 1 mM jonów Ni^{2+} oraz Cd^{2+} .

Wnioski. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że jony metali ciężkich ograniczają kiełkowanie *Metarhizium* sp. Wykazano zróżnicowaną wrażliwość badanych szczepów na obecność metali ciężkich w podłożu wzrostowym. Największą tolerancją odznaczały się szczepy *M. anisopliae* i *M. globosum*.

Heavy metals influence on spores germination on fungal genus *Metarhizium*

Marta Gryzł¹, Anna Różycka¹, Sylwia Różalska², Mirosława Słaba²,
Jerzy Długoński²

¹Biotechnology and Microbiology Students Society "Bio-Mik"

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology

Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz

²Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of
Biology and Environmental Protection, 12/16 Banacha St., PL-90-231 Łódź

Introduction. Environmental pollution with heavy metals originating from anthropogenic sources has increased significantly over the last decade. Excessive amounts of compounds containing ions of lead, cadmium, nickel and mercury in the environment limit the normal growth and development of plants, animals and fungi. Microorganisms interact with metals in the natural or synthetic environment and change physico-chemical properties of cellular structures, which affects their growth and survival activity.

Aim. The aim of this study was to determine the effect of heavy metals on the process of *Metarhizium* sp. germination spores.

Materials and methods. Test samples containing suspensions of spores of *Metarhizium* sp. strains were prepared, followed by the addition of heavy metal ions: Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} . Static cultures were incubated at 28 °C for 24 h and then the highest concentration of heavy metal ions in which spores were able to germinate were determined. In order to perform photographic documentation 10 ml of the samples was collected and placed on macroscopic glass slides with the addition of Lactophenol blue dye solution (Sigma–

Aldrich). Pictures were taken using a light microscope Axiovert 200M (Zeiss) with Plan Neofluar objective (40X) and the AxioVision software (Zeiss).

Results. All tested *Metarhizium* sp. strains showed sensitivity to the tested heavy metal ions. It was found that spore germination in the presence of Zn^{2+} ions was characterized by significant volatility. The least sensitive to the presence of zinc ions in the growth medium were found to be *M. anisopliae* and *M. globosum*. The lowest sensitivity on the germination of spores in the presence of Pb^{2+} ions was exhibited by the strains of *M. majus*, *M. acridum*, *M. anisopliae*, *M. lepidotiae*, whereas in the presence of Cu^{2+} ions in a concentration of 5mM the ability to spore germination had only the strain *M. lepidotiae*. Ni^{2+} and Cd^{2+} ions exhibited similar toxicity toward all strains tested. *M. brunneum* and *M. globosum* strains, were able to germinate at 1 mM Ni^{2+} and Cd^{2+} .

Conclusions. It was found that heavy metal ions reduce *Metarhizium* sp. germination. Has been shown differentially sensitivity of tested strains for presence of heavy metals in the growth medium. The greatest tolerance characterized strains of *M. anisopliae* and *M. globosum*.

Grzyby briofilne w zbiorowiskach torfowiskowych Polski Środkowej

Barbara Grzesiak

Katedra Algologii i Mykologii, Uniwersytet Łódzki
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; grzesiak_b@tlen.pl

Grzyby rosnące na mszakach lub w ich bezpośrednim otoczeniu określa się mianem briofilnych. Związki tych dwóch grup organizmów mogą mieć charakter obligatoryjny lub fakultatywny. Najdogodniejszymi siedliskami do badania takich relacji są płaty zbiorowisk torfowiskowych.

Torfowiska wysokie oraz przejściowe ze względu na intensywne przemiany, jakim podlegają w przypadku zaburzenia naturalnego bilansu wodnego, są bardzo podatne na zniszczenie. W całej Europie stanowią one grupę biotopów wyjątkowo cennych przyrodniczo. Występują tu specyficzne gatunki roślin, zwierząt i grzybów, których nie spotyka się na innych siedliskach. W latach 2007-2011 prowadzono badania mykobioty torfowisk wysokich i przejściowych Polski Środkowej. Obserwacjami objęto sześć obiektów: rezerwat „Czarny Ług”, rezerwat „Korzeń”, rezerwat „Torfowisko Rąbień”, uroczysko „Święte Ługi”, torfowisko Żabieniec oraz torfowisko położone w okolicach Ostoi k. Zelowa. Celem badań było: 1. przedstawienie składu gatunkowego makromycetes wybranych torfowisk wysokich i przejściowych, 2. analiza różnorodności gatunkowej i ekologicznej zidentyfikowanych gatunków grzybów oraz 3. pogłębienie studiów nad charakterem bezpośrednich powiązań grzybów i mchów na wybranych przykładach.

Obserwacje prowadzono metodą stałych powierzchni obserwacyjnych (10 m² każda) oraz metodą marszrutową. Zidentyfikowano 167 gatunków makromycetes, z czego 162 należy do Basidiomycota, a pięć do Ascomycota. Na tle grup ekologicznych i troficznych grzybów wyraźnie wyodrębnia się grupa grzybów briofilnych, która jest istotnym, odrębnym składnikiem

torfowisk wysokich i przejściowych. Wśród zidentyfikowanych taksonów stanowią one 42%, z czego 51 gatunków to grzyby fakultatywnie, a 19 obligatoryjnie brioofilne. Wyróżnia się także grupa grzybów określanych jako sfagnofilne – grzybów ściśle brioofilne powiązanych strukturalnie i funkcjonalnie z torfowcami. Grzyby te wykazują bezpośrednią zależność od wielkości płatów mchów oraz ich składu gatunkowego. Badania anatomiczne wykazujące obecność grzybnii w komórkach torfowców oraz obserwacje terenowe potwierdziły pasożytniczy charakter relacji grzybów i mchów np. w przypadku *Lyophyllum palustre* i *Rickenella fibula*. Większość powiązań grzybów z mchami ma charakter saprotroficzny. Badane torfowiska Polski Środkowej są ostoją trzech gatunków grzybów chronionych oraz 21 wykazanych na Czerwonej Liście grzybów wielkoowocnikowych w Polsce. Ich obecność podnosi wartość przyrodniczą torfowisk i przemawia za potrzebą ochrony tych cennych zbiorowisk w Polsce Środkowej.

Bryophilous fungi in peatland communities of central Poland

Barbara Grzesiak

Department of Algology and Mycology, University of Łódź
12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź; grzesiak_b@tlen.pl

Fungi growing on bryophytes or in their close vicinity are referred to as bryophilous fungi. The relationships of these two groups of organisms may be obligate or facultative. Patches of peat bogs are the most suitable habitats to investigate these relationships.

Raised and transitional bogs are very susceptible to destruction due to intensive transformations resulting from disturbance of the habitat natural water balance. Across Europe, they are a very valuable natural habitats. There are, specific species of plants, animals and fungi, which are not encountered in other habitats. In the years 2007-2011, research of mycobiota of raised and transitional bogs was conducted in central Poland. Observations covered six objects: reserve "Czarny Ług" reserve "Korzeń" reserve "Torfowisko Rąbień", wilderness "Święte Ługi", bog Żabieniec and fen located in the vicinity of Ostoja near Żelów. The aim of the study was to: 1. present macromycete species composition of selected raised and transitional bogs, 2. analyse species and ecological diversity of identified fungal species, and 3. deepen the study of the nature of the direct links between fungi and mosses (based on selected examples). Observations were carried out on permanent observation plots (10 m² each) and using a route method. 167 macromycete species have been identified, 162 of which belong to Basidiomycota, and 5 to Ascomycota. A group of bryophilous species, which is important component of raised and transitional bogs, clearly distinguishes from other ecological and trophic groups of fungi. Bryophilous fungi constitute 42% of all identified taxa, and among them 51 species are facultative and 19 are obligate bryophilous fungi. Also a group of 'sphagnophiles' has emerged. It is composed with bryophilous species closely structurally and functionally related to *Sphagnum* mosses. Occurrence of these fungi directly correlates with the size and species

composition of moss patches. Anatomical studies showing hyphae in the cells of *Sphagnum* moss, as well as field observations confirmed the parasitic nature of relations of fungi and mosses (e.g. in case of *Lyophyllum palustre* and *Rickenella fibula*). Most of the fungus-moss relationships are saprotrophic. Studied peat bogs are refuges of the three fungi species protected by law and 21 species red-listed in Poland in 2006. Their presence increases the value of natural bogs and argues for the need to protect these valuable communities in central Poland.

Charakterystyka wzrostu nowo wyizolowanego szczepu grzyba owadobójczego z rodzaju *Gibellula* na różnych podłożach mikrobiologicznych

Jakub Grzeszczuk¹, Jerzy Piątkowski¹, Elżbieta Płaskowska²

¹Zakład Fizykochemii Drobnoustrojów, Instytut Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytet Wrocławski, ul. Przybyszewskiego 63/77, 51-148 Wrocław

²Zakład Fitopatologii i Mikologii, Katedra Ochrony Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 24a, 53-363 Wrocław

W lesie na Mierzei Helskiej 15 sierpnia 2012 roku znaleziono martwego pająka, którego ciało było w pełni pokryte suchymi strzępkami grzyba owadobójczego z rodzaju *Gibellula*. Celem przeprowadzonych badań była charakterystyka wzrostu i zachowania grzybni na różnych podłożach wzrostowych, jak i określenie cech mikromorfologicznych oraz makromorfologicznych.

Świeże kolonie grzyba zostały otrzymane poprzez fizyczne oddzielenie pojedynczej synnemy z preparatu wyjściowego i umieszczenie jej na podłożu YPG (glukoza, pepton, ekstrakt drożdżowy, agaroz). Nowe strzępki były widoczne po 6 dniach hodowli.

Otrzymane nowe kolonie zostały wnikliwie przeanalizowane przy użyciu podstawowych mikroskopów świetlnych i cyfrowego aparatu BRESSER® MicroCam 5 MP, dokonano również analizy porównawczej z istniejącą literaturą.

Badany organizm wykazał cechy charakterystyczne dla rodzaju *Gibellula*, a także wiele nietypowych i rzadkich u innych grzybów. Podłoże wzrostowe wokół kolonii było ciemno zabarwione, co prawdopodobnie wskazywało na obecność metabolitów wtórnych.

Analiza wzrostu na różnych podłożach wskazała na obecność zapotrzebowania odżywczego typowego dla grzybów owadobójczych. Entomopatogen wzrastał najlepiej na podłożach zawierających tłuste mleko lub żółtka jaj kurzych. Najwolniejszy wzrost był obserwowany na standardowym podłożu YPG.

Grzyb wykazał również właściwości bakteriostatyczne/bakteriobójcze na wspomnianym wyżej podłożu. Po skażeniu podłoża bakteriami, najprawdopodobniej pochodzącymi z powietrza, wokół kolonii grzyba wystąpiło zjawisko zahamowania wzrostu murawy bakteryjnej.

Niemniej zakres badań pokrył jedynie podstawy badanego zagadnienia. Niewątpliwie następnym krokiem powinno być przeprowadzenie analiz DNA w celu odpowiedniego pozycjonowania taksonomicznego. Co więcej, należałoby też podjąć kroki w kierunku dalszego zrozumienia metabolizmu badanego organizmu, struktury związków, jakie produkuje, jak i ogólnej natury przemian biochemicznych, które przeprowadza w swoim środowisku.

Characteristic of growth of newly isolated strain of entomopathogenic fungus of genus *Gibellula* on diverse microbiological growth media

Jakub Grzeszczuk¹, Jerzy Piątkowski¹, Elżbieta Płaskowska²

¹University of Wrocław, Institute of Genetics and Microbiology

Department of Physical Chemistry of Microorganisms

63/77 Przybyszewskiego St., 51-148 Wrocław

²Wrocław University of Environmental and Life Sciences

Department of Plant Protection, Plant Pathology and Mycology Division

24a Grunwaldzki Sq., PL-53-363 Wrocław

On 15th August 2012, in a forest on Hel Peninsula (Poland), a dead spider was found – its body was fully covered probably by a dried up hyphae of entomopathogenic fungus of genus *Gibellula*. The purpose of the conducted research was to characterise both behaviour and growth of the fungus on different growth media, as well as general study of its macromorphology and micromorphology.

The analyses were performed on fresh colonies of the fungus, derived from the dried up fungal synnemata which were mechanically separated from the dried up body of the unidentified spider. To produce those living colonies, a single synnema was cut away from the initial specimen and placed on YPG growth medium (glucose, peptone, yeast extract, agarose). Presence of new hyphae was visible after 6 days. To keep the colony fresh, every 3 to 4 weeks a piece of young fungal hyphae was placed on a newly prepared YPG growth medium.

The resulting living fungal hyphae were firstly thoroughly examined by standard methods, using basic microscopes and BRESSER® MicroCam 5 MP digital camera, as well as available literature. The entomopathogen has been extensively analysed – tested were the growth and behaviour of the organism on various microbiological media (both liquid and solid), as well as growth at different temperatures on the aforementioned media.

The resulting newly propagated fungal hyphae presented a few of features characteristic for the *Gibellula* genus, as well as many macro and micromorphological features unusual and rare in other fungi. The growth medium around the colonies was tinted into darker tones – possibly indicating presence of secondary metabolites. The fungal body itself was creamy-white, with specific folding growth, very often present in laboratory cultures of entomopathogenic fungi.

Analyses of growth on different media showed that the fungus presented nutritional needs characteristic for entomopathogenic fungi. The organism

grew best on growth media containing fatty milk or chicken egg yolk – both containing animal proteins – therefore revealing its predatory/parasitic nature and preferences. Slowest growth was observed on a standard YPG growth medium.

Formation of spores and spore-like structures was observed in liquid growth media kept in temperature of 28 degrees Celsius. Formed structures were bundled together, in groups exceeding easily distinguishable numbers – with a sticky, dark pigmented matter in between the spores.

The fungus also presented bacteriostatic or bactericidal properties on a YPG plate (entomopathogenic colony was positioned in the middle). When the medium got contaminated by bacteria most likely coming from the air, bacterial growth stopped around the fungal body – forming a clearly visible halo around its colony.

All the analyses conducted on the fungal specimen lead to a conclusion that the organism is quite adaptive – taking on different physical forms depending on the conditions in which the organism is growing.

Undoubtedly the range of conducted study only barely covered the basics of the characteristics of the isolated fungus. Firstly, a taxonomic positioning of the organism should be done, most favourably using DNA comparison techniques. Furthermore, an ongoing study should take place to deepen the understanding of the organism's metabolism, structure of the compounds it produces and general biochemical transformations it undertakes in its habitat.

Rola grzybów mykoryzowych w fitoremediacji

Katarzyna Hryniewicz

Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń

Grzyby mykoryzowe stanowią niezwykle ważną grupę mikroorganizmów glebowych, które tworzą symbiozę z korzeniami większości roślin lądowych i pośredniczą w wielu kluczowych procesach zachodzących w ekosystemach. Szczególnie ważną rolę symbiotyczne grzyby mogą odgrywać w glebach zanieczyszczonych, ponieważ przyczyniają się do wzrostu tolerancji gospodarza roślinnego na stres abiotyczny, np. poprzez wzrost dostępności składników pokarmowych i/lub detoksykację zanieczyszczeń i wpływają w ten sposób na szybszą rekultywację obszarów zdegradowanych. W procesach rekultywacji terenów zanieczyszczonych rozpatrywane są głównie dwa typy symbiozy mykoryzowej, które tworzone są przez grzyby ektomykoryzowe i arbuskularne. Korzenie pojedynczej rośliny mogą być skolonizowane przez wiele gatunków grzybów, jednak typ symbiozy mykoryzowej (ektomykoryza lub mykoryza arbuskularna) jest zwykle charakterystyczny dla rośliny gospodarza. Pomimo wielu danych potwierdzających niezwykle istotną rolę, jaką grzyby mykoryzowe odgrywają w interakcjach gleba-mikroorganizm-roślina, stosunkowo niewiele badań koncentruje się na ich potencjalnym zastosowaniu w procesach fitoremediacji. Wykazano, że różnorodność i liczebność grzybów symbiotycznych może być w znacznym stopniu obniżona

w wyniku zanieczyszczenia gleby. Jednakże mykoryzy charakteryzujące się wysoką tolerancją na niekorzystne warunki glebowe, np. obecność metali ciężkich, mogą być stosowane z dużym powodzeniem w procesie fitoremediacji. Fitoremediacja polega na wykorzystaniu roślin do obniżania poziomu związków toksycznych w glebie, stabilizacji gleby i hamowaniu procesu erozji. Przeprowadzone dotychczas badania wykazały, że wydajność fitoremediacji może być istotnie zwiększona w wyniku zastosowania odpowiednio dobranych mikroorganizmów, takich jak np. grzyby mykoryzowe. Należy jednak pamiętać, że skuteczność grzybów mykoryzowych w fitoremediacji w znacznym stopniu zależy od gatunku grzyba i parametrów glebowych. Pozytywny wpływ symbiozy utworzonej pomiędzy rośliną a grzybem mykoryzowym może być istotnie zwiększony w wyniku działania bakterii ryzosferowych, które mogą bezpośrednio lub pośrednio stymulować proces fitoremediacji. Jednakże czynnikiem warunkującym skuteczność procesu fitoremediacji jest właściwy dobór gospodarza roślinnego oraz grzybów mykoryzowych i ewentualnie bakterii wykorzystywanych do inokulacji. Możliwości zastosowania inokulum mikrobiologicznego w procesie rekultywacji gleb zanieczyszczonych testowano z wieloma gatunkami roślin, np. szybko rosnącymi gatunkami drzew, ale głównie na małą skalę.

Główną przyczyną stosunkowo niewielkiego zainteresowania procesem mikrobiologicznie wspomaganej fitoremediacji w warunkach polowych na dużą skalę jest brak danych dotyczących odpowiednich strategii umożliwiających określenie czasu i kosztów procesu, przygotowania i stosowania inokulum mikrobiologicznego oraz braków w wiedzy związanej z wydajnością szczepów stosowanych podczas inokulacji. Zastosowanie układu roślina-gleba-mikroorganizm na większą skalę (np. bioremediacja obszarów przemysłowych) stanowi jedno z ważniejszych wyzwań naukowców i jest niezbędne dla zrównoważonego zarządzania gruntami na całym świecie. Stąd też zrozumienie tego procesu w mikroskali stanowi wciąż znaczny postęp w odniesieniu do procesów zachodzących w makroskali.

Głównym celem podjętego problemu jest zaprezentowanie strategii promujących proces fitoremediacji zdegradowanych gleb z wykorzystaniem inokulum mykoryzowego i wskazanie zalet i ograniczeń wynikających z ich zastosowania w rekultywacji obszarów zanieczyszczonych.

The role of mycorrhizal fungi in phytoremediation

Katarzyna Hrynkiewicz

Department of Microbiology, Faculty of Biology and Environmental Protection Nicolaus Copernicus University, 1 Lwowska St., PL-87-100 Toruń

Mycorrhizal fungi are an important component of soil microbial community which form symbiotic associations with most land plants and mediate in a range of crucial processes in the ecosystems. The significance of mycorrhizal fungi in polluted soils can be enormous since they are able to increase the tolerance of plants against abiotic stress, e.g. by an improved

nutrient supply or by detoxification of pollutants, and contribute in this way to an accelerated remediation of disturbed soils. Two major types of mycorrhizal associations considered in the respect of remediation of polluted areas are formed by ectomycorrhizal and arbuscular fungi. Although a number of fungal species may colonize the roots of a single plant, the type of mycorrhizal symbiosis (ecto- or arbuscular mycorrhiza) is usually characteristic for the host plant. Despite the importance of the role that mycorrhizal fungi play in soil-microbe-plant interactions, relatively few studies have focused on their potential in phytoremediation efforts. It was revealed, that diversity and density of symbiotic fungi can be strongly reduced by soil pollution. However, mycorrhizal fungi characterized by a high tolerance to heavy metals are used with a great success in the process of phytoremediation. Phytoremediation involves the use of plants in the process of decreasing the level of toxic compounds in soil, in stabilizing the soil and inhibiting erosion. Several experiments demonstrated that phytoremediation can be enhanced by the use of appropriately selected microorganisms, such as mycorrhizal fungi. However, effectiveness of mycorrhizal fungi in phytoremediation is species specific and belong strongly on soil parameters. Positive effect of mycorrhizal-plant associations can be enhanced by rhizosphere bacteria, which can directly or indirectly stimulate process of phytoremediation. However, correct combination of host-plant and mycorrhizal and/or bacterial microorganisms used for inoculation is a key factor in successful process of phytoremediation. The application of microbial inoculum for the remediation of disturbed soils was tested with several plant species, e.g., fast growing tree species, but mostly on a small scale. Main reasons for the lack of field applications in a larger scale are the lack of suitable time- and cost-effective strategies for a site-specific selection, preparation and application of microbial inoculum and the strong restriction of information on on-site efficiency of inoculated microbial strains. The scaling up of processes in the plant–soil–microbe system (as for example the bioremediation of industrially contaminated sites) represents one of the greatest challenges facing environmental scientists and yet is essential for sustainable land management worldwide. This is why understanding of the process on a micro-scale is still much progress to be made when relating this to processes at the macro-scale.

Major objectives is to present strategies for the promotion of phytoremediation of disturbed soils with the use of mycorrhizal inoculum and to indicate potentials and limitations of such microbial inoculation in recultivation of polluted areas.

Czynniki warunkujące przebieg procesu płciowego u grzybów z rodzaju *Fusarium* sp. sekcji *Liseola*

Emilia Jabłońska*, Wojciech Wakuliński, Marcin Wit

Samodzielny Zakład Fitopatologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; *emilia.jablonska@gmail.com

Przedstawiciele sekcji *Liseola* rodzaju *Fusarium* stanowią grupę ważnych, mykotoksynotwórczych patogenów, zaliczanych do czynników sprawczych

fuzarioz występujących w szczególności na roślinach z rodziny Poaceae. Kluczowe znaczenie w epidemiologii chorób roślin, które są wywoływane przez gatunki tej sekcji, ma przebieg procesu płciowego. Na zdolność tworzenia stadium doskonałego może mieć wpływ szereg uwarunkowań, takich jak proporcjonalny udział w populacji osobników o różnych typach kojarzeniowych plechy oraz czynniki środowiska.

Realizowane badania miały na celu określenie wpływu wybranych czynników na przebieg procesu morfogenezy stadium doskonałego. W ramach badań ustalono rozkład typów kojarzeniowych w populacji, dokonano analizy wpływ długości fali świetlnej na zdolność tworzenia owocników stadium doskonałego *F. verticillioides* (teleomorfa: *Gibberella fujikuroi* var. *moniliformis*) i *F. temperatum* (nieustalona nomenklatura stadium doskonałego). Określono również wpływ odmiennych warunków świetlnych na rozwój anamorfy obu gatunków.

Indukcję stadium doskonałego *F. verticillioides* i *F. temperatum* prowadzono według zmodyfikowanej metody Klittich i Leslie (1988). Po przekrzyżowaniu kultur przeciwnych typów płciowych, szalki inkubowano w warunkach białego, niebieskiego (440 nm) i czerwonego (660 nm) światła LED oraz w ciemności. Morfogenezę owocników oceniano według 8-stopniowej skali Dufault et al. (2005) pod względem pigmentacji perytecjów oraz stopnia dojrzałości worków i askospor. Wyniki badań wskazują na istotny wpływ długości fali świetlnej na tworzenie i dojrzewanie perytecjów. Kultury inkubowane w spektrum światła białego charakteryzowały się największą wydajnością owocnikowania. Pod wpływem światła o długości fali 660 nm zaobserwowano istotne zahamowanie morfogenezy stadium doskonałego. Nie odnotowano natomiast istotnego statystycznie wpływu spektrum fali świetlnej na zdolność kiełkowania zarodników workowych.

Rozwój stadium anamorfy w różnych warunkach świetlnych oceniano pod kątem szybkości wzrostu kultur grzybów oraz wymiarów zarodników konidialnych. Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wskazują, że zmiana spektrum fali świetlnej lub całkowite ograniczenie dostępu światła nie wpływa istotnie na rozwój *F. temperatum*, a w przypadku *F. verticillioides* nieznacznie go hamuje.

Factors affecting sexual reproduction in *Fusarium* sp. section *Liseola*

Emilia Jabłońska*, Wojciech Wakuliński, Marcin Wit

Department of Plant Pathology, Warsaw University of Life Sciences

159 Nowoursynowska St., PL-02-776 Warszawa;

*emilia.jablonska@gmail.com

Fusarium genus comprises several toxigenic species with a wide host range, including members of *Liseola* section, i.e. *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, *F. thapsinum*, and *F. temperatum*, the last one being the most

lately described species (Scauflaire et. al. 2011). All of the above species are associated with plants of the Poaceae family. *Fusarium* infection leads to plant diseases of major economic importance – fusariosis. Apart from typical disease symptoms, such as seedling blight, rots of various plant organs and reduction in crop yield and quality, fusariosis are also a potential threat to human and animal health due to the ability of these pathogens to synthesize high amounts of mycotoxins.

Members of *Liseola* section are heterothallic fungi with a dimictic mating system (Steenkamp et al. 2000). In other words, sexual reproduction requires the presence of two genetically distinct mycelia. The aim of this study was to examine the light influence on perfect stage development in selected *Fusarium* species.

For this purpose a total of 105 monoconidial *Fusarium* strains were isolated from various hosts and of different geographical origin. Perithecial development of *Gibberella fujikuroi* species complex was induced on Carrot Agar medium. The mating experiments were conducted according to the modified Klittich and Leslie method (1988). After fertilization, cultures were incubated under four different conditions: under white, blue (440 nm) and red (660 nm) light – and (as opposed to) constant darkness. Perithecial formation, development and maturation was determined according to the Dufault et al. (2005) 8-point scale.

The mating experiments findings suggest that light wavelength appears to be of a considerable influence on the sexual development of *F. verticillioides* (teleomorph: *Gibberella moniliformis* var. *moniliformis*) and *F. temperatum* (the teleomorph nomenclature for this species not having been established yet). Blue light exposure induced the fruiting body formation, but it was less effective than white light. In comparison, red light partially inhibited the sexual cycle, as a few perithecia were obtained under this spectrum.

Dufault N. S., De Wolf E. D , Lipps P. E. Madden L. V. 2006. Role of temperature and moisture in the production and maturation of *Gibberella zeae* perithecia. Plant Disease Vol. 90/5.

Klittich C.J.R., Leslie J.F. 1988. Nitrate reduction mutants of *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*). Genetics 118: 417-423.

Scauflaire, J., Gourgue, M., Munaut, F. 2011. *Fusarium temperatum* sp. nov. from maize, an emergent species closely related to *Fusarium subglutinans*. Mycologia 103, 586-597.

Steenkamp E.T., Wingfield B.D., Coutinho T.A., Zeller K.A., Wingfield M.J., Marasas W.F.O., Leslie, J.F. 2000. PCR-based identification of MAT-1 and MAT-2 in the *Gibberella fujikuroi* species complex. Applied Environmental Microbiology 66, s. 4378-4382.

Zastosowanie metod molekularnych w diagnostyce wybranych grzybic człowieka

Tomasz Jagielski

Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii

Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

ul. I. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa; *jagielski@biol.uw.edu.pl

Współczesna epidemiologia zakażeń grzybiczych coraz częściej korzysta z metod biologii molekularnej. Obejmują one zarówno metody diagnostyczne umożliwiające identyfikację czynnika chorobotwórczego na poziomie gatunku, jak i różnicowanie wewnątrzgatunkowe (typowanie szczepów). W przeciwieństwie do klasycznych metod identyfikacji, opartych na analizie cech fenotypowych (gł. morfologicznych, a w mniejszym stopniu także biochemicznych i serologicznych), metody molekularne badają różnorodność szczepów w oparciu o analizę ich materiału genetycznego. O istotnej przewadze metod genotypowych nad klasycznymi stanowi fakt, że materiał genetyczny jest unikatowy i względnie stały dla każdego organizmu, podczas gdy fenotyp poddany presji środowiska ulega ciągłym zmianom. U grzybów, wobec złożonego cyklu życiowego i dużej plastyczności adaptacyjnej do środowiska, zjawisko zmienności fenotypowej widać niezwykle wyraźnie.

Typowanie genetyczne (genotypowanie) posługując się różnego rodzaju znacznikami (markerami) molekularnymi wykrywa, w zakresie rodzaju (gatunku lub szczepu), polimorfizm organizacji i struktury materiału genetycznego, przy czym źródłem wewnątrzgatunkowego polimorfizmu mogą być zarówno rekombinacje genetyczne, jak i mutacje zachodzące podczas replikacji.

Obecnie większość stosowanych metod genotypowych opartych jest na amplifikacji DNA techniką PCR. Wśród najczęściej stosowanych technik są analiza polimorfizmu losowo amplifikowanych fragmentów DNA (ang. *Random Amplification of Polymorphic DNA*, RAPD), analiza polimorfizmu fragmentów restrykcyjnych (ang. *Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP), zagnieżdżona reakcja PCR (ang. *nested PCR*), PCR w czasie rzeczywistym (ang. *Real-Time PCR*, RT-PCR) oraz analiza sekwencyjna produktów amplifikacji (ang. *PCR-sequencing*).

Zastosowanie metod molekularnych (typowania genetycznego) w epidemiologii zakażeń grzybiczych poszerzyło nie tylko jej warsztat metodyczny, ale przede wszystkim zakres przedmiotowy badań. Metody te nie tylko pozwalają prawidłowo przeprowadzić identyfikację czynnika zakaźnego, ale także są niezastąpione w szczegółowych dochodzeniach epidemiologicznych. Pozwalają m.in. na odróżnienie stanu kolonizacji od infekcji grzybiczej, zakażenia zewnętrznego (egzogennego) od wewnątrzpochoźnego (endogennego); umożliwiają rozpoznanie, czy trwające zakaźenie wywołane jest przez jeden szczep czy przez wiele szczepów współistniejących oraz czy ten sam szczep jest źródłem zakaźenia pierwotnego i reinfekcji. Badania molekularne uzupełnione o szczegółowy wywiad epidemiologiczny pozwalają na wiarygodne ustalenie źródeł i dróg szerzenia się zakażeń grzybiczych w różnych zbiorowiskach ludzkich. Wyniki tych

ustaleń mają kluczowe znaczenie dla weryfikacji dotychczasowych, względnie wdrożenia nowych strategii o charakterze zapobiegawczo-leczniczym.

Application of molecular methods in diagnosis of selected mycoses in humans

Tomasz Jagielski

Department of Applied Microbiology, Institute of Microbiology

Faculty of Biology, University of Warsaw

1 Miecznikowa St., PL-02-096 Warszawa; *jagielski@biol.uw.edu.pl

As the number of immunocompromised patients has increased substantially over recent years, the incidence and variety of fungal infections have emerged and escalated across the world. The growing mycological crisis has considerably stimulated the development of rapid, robust, and accurate identification methods. The need for such methods is even more pressing since currently available commercial identification kits do not contain many of the newer, emerging pathogenic species in their repertoires. Historically, identification of fungal species relied upon phenotype-based criteria, including morphology, physiology, and, if possible, mating. These conventional, phenotypic systems, however, often suffer from poor reproducibility, laborious and time-consuming procedures, and, above all, limited discriminatory capacity. This is due to the exceptional diversity of fungi, a high tendency to pleomorphism or inconsistent production of structures by which they can be identified. Therefore, the identification of species and strains of pathogenic fungi has become more and more dependent on molecular approaches which exploit the tremendous variety of fungal DNA. These molecular typing (genotyping) methods target DNA polymorphisms at various loci within the fungal genome and are used as markers for species determination. Not only does genotyping distinguish between different genera and species, but also allows to assess the extent of intra-species heterogeneity. The strain-level differentiation might be helpful in disclosing the sources of infection, elucidating its potential routes of transmission, determining whether the infection involves one strain or a group of strains, and whether recurrence of fungal infection is attributable to the persistence of the original strain or is due to reinfection with a new strain. Furthermore, strain typing can be used to study the molecular mechanisms that mediate host-pathogen interactions or to identify the genotype-specific differences in the phenotypic characteristics, such as virulence, sensitivity to antifungal agents, tropism for a particular body site, transmissibility, etc.

A wide array of different molecular methods has been introduced, over the last decade, into the diagnosis of mycotic diseases and subsequent characterization of the causative agents. Most of these methods follow the same general pattern, which can be summarized as follows: extraction of genomic DNA (i), PCR-based amplification of a selected region of the genome (ii), and analysis of the resulting PCR product (iii). For a PCR-based system to be accurate and discriminative, the choice of a suitable target region or genetic

marker is of utmost importance. The marker should ideally be variable (polymorphic) enough to allow discrimination between even closely related species, while showing sufficient conservation so that strains of the same species would not be split into different clusters. For the purpose of identification at the strain-level, significant sequence variation should exist within a species. There is no molecular marker perfect for every organism and for delivering solution to every epidemiological question. The choice of an appropriate marker should depend on the objectives of the study. Some markers may work better at discriminating individual strains, while the others – at separating species or higher taxa. For some purposes, markers should be more subject to evolutionary changes being influenced by natural selection, whereas in other situations neutral markers, resistant to selective pressure are preferred.

One of the most widely studied genetic marker for the identification of fungal pathogens has been the ribosomal operon, and its three major components: the large subunit (LSU; 26-28S) with two divergent domains (D1, D2) (i), the small subunit (SSU; 18S) (ii), and two internal transcribed spacers (ITS) between the sequences of 18S and 5.8S (ITS1), and 5.8S and 28S rDNAs (ITS2) (iii). The ITS region has recently been proposed as the prime fungal barcode or the default region for species identification. An exception are the yeasts for which LSU has been selected as the standard for identification. However, both the ITS and ribosomal RNA genes often display insufficient variation to unequivocally identify species. Furthermore, they are too highly conserved within species to allow inter-strain comparisons. Therefore, other alternative markers have been sought. These include protein-encoding genes such as *EF1 α* , *TUB*, *CHS-1*, *COX1*, *RPB1* and *RPB2* coding for elongation factor 1- α , β -tubulin, chitin synthase 1, cytochrome c oxidase subunit 1, and two RNA polymerase II subunits, respectively. The well-established, PCR-based, methods for species identification and strain typing of medically important fungi include Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) method, PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) analysis, nested PCR, real-time (RT) PCR, and PCR direct sequencing. All these techniques have successfully been applied to diagnosis of infections caused by the most prevalent fungal species, representatives of three genera: *Trichophyton*, *Candida*, and *Aspergillus*. Currently, a method preferably chosen is PCR-sequencing, involving multiple loci, whose results provide highest resolution and credibility. Still, at least two limitations exist for sequence-based approaches. First is the paucity of sequence databases and contamination of the existing databases with sequencing errors, making the identification either impossible or doubtful. Second, there is no a reliable and objective cutoff of nucleotide identity for species demarcation. In other words, there still remains controversy as to what extent the sequences of two strains have to differ before they can be considered as belonging to separate species.

Of further concern is whether a DNA-based identification method is culture-dependent or applicable also to clinical specimens. Developing assays of direct detection is particularly challenging since fungal pathogens can exist as multiple species complexes or at very low concentrations in clinical samples.

The ideal method should allow unambiguous species identification at the level of clinical specimen, without the need for culturing.

Molecular methods, despite their pitfalls, provide a powerful diagnostic tool in medical mycology. They have now become an integral part of the clinical mycology laboratory, and by this they play a pivotal role in disease surveillance and implementation disease management strategies.

Analiza zdolności wybranych grzybów strzępkowych do eliminacji technicznego nonylofenolu ze środowiska

Tomasz Janicki*, Mariusz Krupiński, Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, Łódź; *tjanicki@biol.uni.lodz.pl

Rozwijający się przemysł jest źródłem wielu zagrożeń dla otaczającego świata. Jednym z nich jest synteza ksenobiotyków – związków niewystępujących naturalnie w środowisku. Posiadają one wiele pożądaných właściwości, dzięki czemu są wykorzystywane na bardzo szeroką skalę w licznych procesach produkcyjnych. Synteza *de novo* ksenobiotyków, ich wszechstronne wykorzystanie na skalę przemysłową, a w konsekwencji emisja do otoczenia, skutkuje poważnymi następstwami. Wynika to z ich wysokiej toksyczności, niskiej podatności na degradację oraz zdolności do akumulacji w organizmach z różnych poziomów łańcucha troficznego. Ksenobiotyki jako substancje niebędące naturalnymi składnikami żywych organizmów bardzo często wykazują szereg szkodliwych właściwości. Wiele związków pochodzenia antropogenicznego należy do zewnątrz środowiskowych modulatorów hormonalnych – EDCs (ang. *endocrine disrupting compounds*). Wykazują one zdolność do interakcji oraz modulowania właściwości układu dokrewnego, przez co wpływają na jego prawidłowe funkcjonowanie, co w konsekwencji prowadzi do zaburzeń homeostazy organizmów.

Jednym z ksenobiotyków należących do EDCs jest techniczny nonylofenol (tNP) – związek, który dzięki swoim właściwościom znalazł zastosowanie w przemyśle jako półprodukt do produkcji etoksyloowanych pochodnych, detergentów, emulgatorów. Techniczny nonylofenol (tNP) jest mieszaniną izomerów zbudowanych z pierścienia fenolowego, który w pozycji *para* posiada dziewięć-węglowy łańcuch alifatyczny o różnym stopniu rozgałęzienia. W związku z jego budową strukturalną niektóre izomery wykazują strukturalne podobieństwo do 17 β -estradiolu, co umożliwia interakcję ze swoistymi receptorami estrogenowymi ludzi i zwierząt.

W prezentowanej pracy badano 20 grzybów strzępkowych, wyizolowanych ze skażonych środowisk, w kierunku oceny ich zdolności do eliminacji tNP. Hodowle grzybów prowadzono w kolbach na podłożu Sabouraud z dodatkiem 100 mg/l technicznego nonylofenolu przez 168 godzin. Spośród badanych szczepów 3 wykazały zdolność do eliminacji tNP ze środowiska wzrostu – IM 833, IM 6363 oraz IM 6375. Szczep IM 833 charakteryzował najwyższy stopień ubytku ksenobiotyku (ponad 99% po 7 dobach inkubacji).

The examination of selected filamentous fungi ability to eliminate technical nonylphenol from environment

Tomasz Janicki*, Mariusz Krupiński, Jerzy Długoński
Department of Industrial Microbiology and Biotechnology,
Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź
12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź; *tjanicki@biol.uni.lodz.pl

Developing industry is the source of many threats to the environment. One of them is the synthesis of xenobiotics – non-naturally occurring compounds. These compounds have many desirable properties, therefore they are used on a very large scale in many manufacturing processes. *De novo* synthesis of xenobiotics, their extensive use on an industrial scale and emission to the environment lead to serious consequences due to their high toxicity, low susceptibility to degradation and the ability to accumulate in organisms from different levels of the trophic chain. Xenobiotics, which are not natural constituents of living organisms, have a number of harmful properties. Many compounds of anthropogenic origin belong to external environmental endocrine modulators - EDCs (Endocrine Disrupting Compounds). They have an ability to interact with and modulate the endocrine system. These properties affect the correct functioning of endocrine, which in turn leads to the disruption of homeostasis.

One of xenobiotics belonging to EDCs is technical nonylphenol (tNP) – a chemical compound that, due to its characteristics, is used in industry as an intermediate for the production of ethoxylated derivatives, detergents, emulsifiers. tNP is a mixture of isomers consisting of the phenol ring and the nine – carbon aliphatic chain in the para position with varying types of branching. Due to the isomers structure nonylphenol exhibiting structural similarity to 17 β – estradiol which allows for interaction with human and animal specific estrogen receptors.

We investigated 20 filamentous fungi isolated from contaminated environments in order to evaluate the ability of tNP eliminate. A fungal culture was carried out in Sabouraud medium containing 100 mg/L of technical nonylphenol for 168 hours. Three strains demonstrated the ability to eliminate tNP from the growth medium: IM 833, IM 6363 and IM 6375. Strain 833 IM was characterized by the highest degree of xenobiotic loss/elimination (more than 99 % after 7 days of incubation).

Dwa nowe gatunki grzybów z rodzaju *Leptographium* związane z *Scolytus ratzeburgii* i *Trypodendron domesticum* w Polsce

Robert Jankowiak

Katedra Fitopatologii Leśnej, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Al. 29 Listopada 46, 31-425 Kraków; rljankow@cyf-kr.edu.pl

Grzyby z rodzaju *Leptographium* należące do rzędu Ophiostomatales są obecnie włączane do grupy *Leptographium sensu lato*. Wszystkie gatunki

należące do tej grupy wytwarzają anamorfy w postaci prostych trzonków konidialnych rozgałęzionych penicoidalnie w górnej części, z konidiami zebranymi w śluzowate skupienia. Niektóre z nich wytwarzają także stadia teleomorficzne i są wówczas opisywane jako *Grosmannia*. Grzyby należące do *Leptographium* s.l. nie są dobrze rozpoznane, zarówno na poziomie filogenetycznym, jak i taksonomicznym. *Leptographium* spp. są pospolitymi ektosymbiontami korników i ryjkowców, a niektóre z nich odgrywają ważną rolę w ekosystemach leśnych, powodując groźne choroby drzew. W Polsce grzyby te są znane ze ścisłego powiązania z kornikami żerującymi w korzeniach drzew oraz z ryjkowcami występującymi w lasach sosnowych.

Podczas badań nad grzybami ofiostomatoidalnymi przeprowadzonymi w różnych rejonach Polski, z chrząszczy *Scolytus ratzeburgii* i *Trypodendron domesticum* (Curculionidae, Scolytinae), jak i z żerowisk owadów zebranych z powalonych brzoź i buków, zostały wyizolowane dwa nietypowe gatunki grzybów należące do rodzaju *Leptographium*. Wyizolowane grzyby zidentyfikowano na podstawie cech morfologicznych oraz sekwencjonowania DNA reprezentatywnych kultur grzybów. Amplifikacji poddano trzy regiony genomu: ITS rDNA region (ITS1-5.8 S-ITS2), gen kodujący β -tubulinę oraz gen kodujący czynnik elongacji translacji EF-1 α . Cechy morfologiczne badanych izolatów grzybów były bardzo podobne do *Leptographium pruni*, który został opisany z *Prunus jamasakura* w Japonii. Kolonie należące do badanych grzybów, na 2% pożywce agarowo-maltozowej rosły bardzo wolno i wykazywały optimum wzrostu w temperaturze 25°C. Kolonie te wykazały ponadto wysoką tolerancję w stosunku do antybiotyku cycloheximide oraz fungicydu benomyl. Porównanie uzyskanych sekwencji obszaru ITS rDNA, oraz genów β -tubuliny i EF-1 α reprezentatywnych kultur grzybów z sekwencjami referencyjnymi oraz analiza filogenetyczna potwierdziły, że izolaty te reprezentują nowe dla nauki gatunki grzybów.

Two new species of *Leptographium* from *Scolytus ratzeburgii* and *Trypodendron domesticum* in Poland

Robert Jankowiak

Department of Forest Pathology, University of Agriculture in Kraków
29 Listopada Av. no. 46, PL-31-425 Kraków; rljankow@cyf-kr.edu.pl

Species of *Leptographium* residing in the order Ophiostomatales are now classified in a group named *Leptographium sensu lato*. Members of this group are not well-defined, both taxonomically and phylogenetically, and include ten species complexes. *Leptographium* species are characterized by anamorphic structures with erect conidiophores terminating in penicillate branches and conidia produced in slimy masses. Some species produce additionally teleomorphs described as *Grosmannia*. *Leptographium* spp. are commonly ectosymbionts of bark beetles and weevils. Some of them play an important role in the forest ecosystems causing serious diseases of trees. *Leptographium* species in Poland are mainly known from pine forests where they exist in close association with the root-feeding bark beetles and regeneration weevils.

During a survey of ophiostomatoid fungi, two unusual species of *Leptographium*, were isolated directly from the beetles, *Scolytus ratzeburgii* and *Trypodendron domesticum* (Curculionidae, Scolytinae), as well as from insect galleries collected from felled birch and beech trees in Poland. Identifications were achieved using comparisons of morphological characters and DNA sequence data for the ITS rDNA region (ITS1-5.8 S-ITS2), as well as the partial β -tubulin and EF-1 α genes. Morphological characteristics showed that these species were similar to *Leptographium pruni*, which has been described from *Prunus jamasakura* in Japan. The colonies of both species grew very slowly, with optimum growth at 25° C on 2% malt-extract agar, and showed a high level of tolerance to cycloheximide and benomyl. Comparison of the ITS rDNA, β -tubulin and EF-1 α gene sequences with reference sequences and phylogenetic analysis also confirmed that these *Leptographium* species represent new taxa.

Eliminacja barwników syntetycznych z wykorzystaniem systemu „adsorpcja-biodegradacja”

Anna Jasińska*, Katarzyna Paraszkievicz, Jerzy Długoński
Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki
12/16 Banacha St., 90-237 Łódź; *ajas@biol.uni.lodz.pl

Barwniki syntetyczne z uwagi na złożoną strukturę i wysoką stabilność mogą latami utrzymywać się w ekosystemach i zagrażać różnym organizmom. Istnieje wiele technik usuwania barwników ze ścieków. Jedną z nich jest mikrobiologiczna degradacja przez niektóre bakterie, mikroskopowe grzyby strzępkowe, drożdże i algi. Wysokie stężenia barwników mogą jednak działać toksycznie w stosunku do użytych drobnoustrojów. Stosunkowo prosta i tania jest adsorpcja z wykorzystaniem różnorodnych sorbentów (często będących odpadami przemysłu rolno-spożywczego), które wiążą barwniki nawet w bardzo wysokich stężeniach. Proces ten nie pozwala jednak w pełni pozbyć się toksycznych związków, gdyż pozostają one nadal związane z adsorbentem. Stąd też interesującym rozwiązaniem jest dwustopniowa eliminacja, zastosowana wcześniej przez Jasińską et al. (2013) do usuwania Zieleni Malachitowej. Metoda powyższa polega na związaniu barwnika przez odpadowy sorbent, a następnie mikrobiologicznej degradacji takiego układu.

W niniejszej pracy oceniono przebieg utylizacji makucha rzepakowego z zaadsorbowanym wcześniej barwnikiem (Direct Blue 86 – DB86 lub Basic Violet 10 – BV10). W badaniach wykorzystano mikroskopowe grzyby strzępkowe (pochodzące z kolekcji szczepów Katedry Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, UŁ) oznaczone symbolami IM 6471, IM 6475, IM 6477 oraz IM 6485. Źródłem wszystkich izolatów była gleba z terenu byłych zakładów produkcji barwników „Boruta” w Zgierzu. Hodowle prowadzono w płynnym podłożu Czapek-Dox z dodatkiem zużytego sorbenta. Po 96 godzinach hodowli dokonano oceny makroskopowej i mikroskopowej prób. Na podstawie uzyskanych obserwacji stwierdzono, że cząstki sorbenta

zarówno z zaadsorbowanym DB86, jak i BV10 są silnie skolonizowane przez grzybnie wszystkich badanych izolatów. Jako najbardziej efektywny wskazano szczep IM 6471 powodujący widoczne rozdrobnienie cząstek makucha ze związanym barwnikiem.

Opracowana metoda wykorzystująca system "adsorpcja – biodegradacja" pozwala na szybką i efektywną eliminację toksycznych barwników syntetycznych stanowiąc tym samym alternatywę dla stosowanych dotąd metod.

Synthetic dyes elimination from aqueous solution using the system „adsorption – biodegradation”

Anna Jasińska*, Katarzyna Paraszkievicz, Jerzy Długoński

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology

Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz

12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź; *ajas@biol.uni.lodz.pl

Because of the complex structure and high stability, synthetic dyes can persist in ecosystems for years and pose a threat to various organisms. There are many techniques for the removal of dyes from wastewater. One of them is the microbiological degradation by some bacteria, microscopic filamentous fungi, yeasts and algae. However, high concentrations of dyes may be toxic to the used microorganisms. A relatively simple and cheap method is adsorption using a variety of sorbents (often food industry residues) that bind dyes even at very high concentrations. This process does not allow a complete elimination of toxic compounds because they remain associated with the adsorbent. Therefore, an interesting approach is the two-stage technique, applied previously by Jasińska et al. (2013) for the removal of Malachite Green, involving dye binding by the sorbent and further microbial utilization.

The aim of the present investigation was to study utilization of dye-loaded (Direct Blue 86 - DB86 or Basic Violet 10 – BV10) rapeseed press cake by microbial biodegradation. Microscopic filamentous fungi (from the strain collection of the Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, University of Lodz) marked with symbols IM 6471, IM 6475, IM 6477 and IM 6485 were used in this study. The source of all isolates was the soil around the textile dyeing factory "Boruta" in Zgierz. Cultures grown in liquid Czapek-Dox medium were supplemented with the dye-loaded sorbent. After 96 hours of culturing macro- and microscopic inspections were performed. It was observed that the sorbent particles loaded with DB86 or BV10 were highly colonized by hyphae of all tested strains. The strain IM 6471 was pointed as the most efficient in the waste sorbent utilization because it caused the visible fragmentation of the dye-loaded rapeseed press cake particles.

The developed method uses a system of "adsorption - biodegradation" and allows fast and effective elimination of toxic synthetic dyes. Therefore, it seems to be an alternative to the methods used so far.

Jasińska A., Bernat P., Paraszkievicz K., 2013. Malachite green removal

from aqueous solution using the system rapeseed press cake and fungus *Myrothecium roridum*. Desalination and Water Treatment 2013, 1-9.

Zanieczyszczenie rtęcią maślaka sitarza (*Suillus bovinus*) i jego podłoża glebowego – ocena zdolności bionagromadzenia i ryzyka spożywania

Gabriela Jurkiewicz¹, Innocent C. Nnorom², Jerzy Falandysz¹

¹Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

²Abia State University, Uturu, Abia State, Nigeria

Badania własne miały na celu określenie stanu zanieczyszczenia i oszacowanie zdolności grzyba maślaka sitarza (*Suillus bovinus*) do bionagromadzenia rtęci w owocnikach oraz ocenę higieniczną maślaków pozyskiwanych do konsumpcji na terenie Polski Północnej. Owocniki maślaka sitarza i próbki wierzchniej warstwy (0-10 cm) gleb leśnych pozyskano do badań z szeregu miejsc na terenie woj. pomorskiego, kujawsko-pomorskiego, warmińsko-mazurskiego i mazowieckiego w latach 1993-2013. W rejonie, gdzie pozyskano materiał do badań, brak było lokalnych, przemysłowych źródeł zanieczyszczenia środowiska rtęcią.

Zawartość rtęci ogółem oznaczono techniką CV-AAS po spaleniu części organicznej próbek grzybów i podłoża glebowego oraz kolejno: amalgamacji, desorpcji i pomiarze stężenia uwolnionych par rtęci w analizatorze typ MA-2 (Nippon Instruments Corporation, Takatsuki, Japonia). Jakość analiz kontrolowano, analizując równolegle z badanym materiałem trzy grzybowe certyfikowane materiały referencyjne (*S. bovinus* CS-M-1, *Agaricus campestris* CS-M-2 i *Leccinum scabrum* CS-M-4) o znanej zawartości rtęci oraz wykonując próby ślepe.

Maślak sitarz może być uznany za grzyba dobrze gromadzącego rtęć. Wartości mediany współczynnika bionagromadzenia (BCF) rtęci w kapeluszach i trzonach grzyba znacznie przekraczały 1, a maksymalnie wynosiły 40 i 28. Gleby spod owocników maślaka zawierały mało rtęci, tj. < 0.050 mg/kg masy suchej, która to wartość jest poziomem tła dla gleb w Polsce. Owocniki maślaka sitarza jak na grzyby wyrastające dziko cechuje umiarkowanie mała zawartość rtęci, tj. w kapeluszach zawartość Hg przeciętnie była znacznie poniżej 0,5 mg/kg masy suchej, a w trzonach była niemal o połowę mniejsza. W świetle dostępnych danych toksykologicznych stan zanieczyszczenia rtęcią owocników maślaka sitarza na terenie Polski Północnej nie przedstawia ryzyka dla zdrowia konsumentów.

Mercury contamination of Bovine Bolete (*Suillus bovinus*) and its soil substratum – assessment of bioconcentration potential and intake risks

Gabriela Jurkiewicz¹, Innocent. C. Nnorom², Jerzy Falandysz¹

¹Faculty of Chemistry, University of Gdańsk

63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

²Abia State University, Uturu, Abia State, Nigeria

Mushrooms (Macromycetes) of different kinds and of different feeding strategies if collected from areas uncontaminated with heavy metals often contain mercury (mostly inorganic Hg) in their fruit bodies at elevated concentrations when compared to other plants or animals from the same habitats. It is also known that many mushrooms can be considered as biota which are very efficient in the up-take of mercury and methylmercury from soils/litter and the subsequent sequestration in its flesh – hymenophore, caps and stalks of fruit bodies (Falandysz et al. 2007a, b; Melgar et al. 2009; Reider et al. 2011).

This study aimed at examining the Hg contamination of Bolete Bovine (*Suillus bovinus*) mushroom collected in Northern Poland between 1993 and 2013, and to assess its potential to bioconcentration mercury as well as evaluate the risk to human consumers from mercury.

Mushrooms after clean-up from plant and soil debris were air-dried for several days. Further, each specimen was separated into two parts – the cap and stipe – and dried at 65 °C to constant weight. For some sampling places whole specimens were subjected to analysis without separation. Dried mushrooms were pulverized in an agate mortar and kept in brand new sealed polyethylene bags under dry conditions. Soil samples (0-10 cm layer) were air dried and sieved through sieve of 2 mm mesh. Analysis of total Hg content of mushroom and soil samples were performed by pyrolysis coupled with element trap (amalgamation) into bed of gold, and further its desorption and cold-vapor atomic absorption spectroscopy determination. A running analytical control and assurance quality (AC/AQ) was performed through the analysis of fungal certified reference materials, blank samples and duplicate and triplicate samples.

Bovine Bolete can be considered as a mushroom that is efficient in the up-take of mercury from soil substratum. The median values of bioconcentration factor (BCF) of mercury for caps and stalks of this mushroom substantially exceeded 1 and the maximum value was up to 40 in caps and 28 in stalks. Soil substrata beneath the fruit bodies showed low contamination, *i.e.* mercury content were < 0.050 mg/kg dry matter, which is the background limit for soils in Poland. Fruit bodies of Bovine Bolete when compared to many other species of mushrooms collected from the wild showed moderately low content of Hg, *i.e.* in caps were substantially below 0.5 mg/kg dry matter and in stalks were around half the cap values. In view of the available toxicological data, the degree of mercury contamination of Bovine Bolete in Northern Poland does not pose health threat to human consumers.

Falandysz J., Gucia M. & Mazur A. 2007a. Content and bioconcentration

factors of mercury by Parasol Mushroom *Macrolepiota procera*. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 42: 735-740.

Falandysz J., Lipka K. & Mazur A. 2007b. Mercury and its bioconcentration factors in Fly Agaric (*Amanita muscaria*) from spatially distant sites in Poland. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 42: 1625-1630.

Melgar M.J., Alonso J., & Garcia M.Á. 2009. Mercury in edible mushrooms and soil. Bioconcentration factors and toxicological risk. Science of the Total Environment, 407: 5328-5334.

Reider S.R., Brunner I., Horvat M., Jacobs A. & Frey B. 2011. Accumulation of mercury and methylmercury by mushrooms and earthworms from forest soils. Environmental Pollution, 159: 2861-2869.

Udział genotypu topoli i środowiska glebowego w kształtowaniu zbiorowisk grzybów mykoryzowych i mikroorganizmów glebowych

Leszek Karliński

Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Parkowa 5, 62-035 Kórnik
leszekk@man.poznan.pl

Rodzaj *Populus* (Salicaceae) odgrywa istotną rolę w wielu gałęziach przemysłu. Topole wykorzystywane są także w zalesianiu terenów porolnych, rekultywacji terenów poprzemysłowych czy jako źródło biomasy na cele energetyczne. Topole i ich mieszańce charakteryzują się dużym zróżnicowaniem fizjologicznym i morfologicznym. Natomiast stosunkowo niewiele wiadomo na temat udziału ich genotypu w kształtowaniu zbiorowisk grzybów mykoryzowych (arbuskularnych [AM] i ektomykoryzowych [ECM]) oraz mikroorganizmów glebowych obecnych w ryzosferze topoli.

Celem badań była analiza wpływu genotypu gospodarza i warunków glebowych na kolonizację mykoryzową (AM i ECM) korzeni oraz na zbiorowiska mikroorganizmów glebowych obecnych w ryzosferze czterech klonów topoli rosnących na trzech stanowiskach, znajdujących się pod wpływem skażenia przemysłowego i wolnych od zanieczyszczeń.

Nasze badania wykazały istotny wpływ genotypu gospodarza na zdolność do nawiązywania związków symbiotycznych z grzybami mikoryzowymi oraz tolerancję na skażenie metalami ciężkimi. Efekt genotypu był jednak silnie modyfikowany przez czynniki środowiskowe, warunkujące rozwój korzeni drobnych, stosunek AM/ECM oraz strukturę zbiorowisk grzybów ECM i mikroorganizmów glebowych. Nie stwierdzono, by genotyp gospodarza istotnie warunkował zbiorowiska grzybów ektomykoryzowych. Dominujący wpływ na strukturę i kompozycję symbiontów ektomykoryzowych miały warunki glebowe i głębokość, z której pobierano próby. Z drugiej strony stwierdzono istotny wpływ genotypu na biomasa bakterii Gram (+) i Gram (-), Actinomycetes oraz AM w ryzosferze badanych klonów topoli.

The effect of host genotype and soil conditions on fungal and microbial community of poplars

Leszek Karliński

Institute of Dendrology Polish Academy of Sciences
5 Parkowa St., PL-62-035 Kórnik; leszekk@man.poznan.pl

The genus *Populus* (Salicaceae) play important role in various branches of industry as well as it can be used for afforestation of post agricultural lands, recultivation of areas degraded by industry and for production of bioenergy. Poplars and their hybrids are known to be very diverse in terms of their physiological and morphological characteristics but little is known about how host genotype influences fungal (ectomycorrhizal and arbuscular) or microbial communities associated with poplar roots and present in the rhizosphere. The objective of our study was to analyze the impact of host genotype and soil conditions on dual (ECM and AM) mycorrhizal colonization of roots and composition of microorganisms in the rhizosphere of four selected poplar clones in three common-garden experiments localized in polluted and unpolluted area.

Our analyzes revealed the importance of poplar genotype in the ability of poplar roots to establish symbiotic relationships with mycorrhizal fungi, and tolerance to heavy metal pollution. However, genetic effects were strongly modified by environmental conditions, which influenced fine-root development, the ratio of ECM and AM colonization and community structure of ECM fungi. The results excluded host genotype as a significant factor that affects ECM communities and revealed the dominant role of site characteristics and soil depth in determining the structure and composition of fungal symbionts associated with the roots of poplar clones. On the other hand we found significant genotype effect on biomass of bacteria Gram (+) and Gram (-), Actinomycetes and AM in rhizosphere of studied poplar clones.

Grzyby na targach okolic Rzeszowa

Renata Kasper-Pakosz^{1,2*}, Łukasz Łuczaj³

¹Zespół Szkół Licealnych w Leżajsku; ul. M Skłodowskiej 6, 37-300 Leżajsk

²Międzynarodowe Studium Doktoranckie Nauk Przyrodniczych PAN
w Krakowie; *renpak@op.pl

³Zakład Botaniki, Instytut Biotechnologii Stosowanej
i Nauk Podstawowych w Weryni, Uniwersytet Rzeszowski
Werynia 502, 36-100 Kolbuszowa

Jesienią 2013 roku, podczas cotygodniowych wizyt, odnotowano wszystkie grzyby sprzedawane na rynkach warzywnych w trzech wybranych miastach południowo-wschodniej Polski (Rzeszów, Jarosław, Leżajsk).

Zidentyfikowano 18 gatunków: borowik szlachetny (*Boletus edulis*), borowik ceglastopory (*B. luridiformis*), podgrzybek zajączek (*Xerocomus subtomentosus*), podgrzybek brunatny (*X. badius*), koźlarz babka (*Leccinum scabrum*), koźlarz czerwony (*L. aurantiacum*), maślak pstry (*Suillus*

variegatus), maślak ziarnisty (*S. granulatus*), maślak żółty (*S. grevillei*), maślak sitarz (*S. bovinus*), maślak zwyczajny (*S. luteus*), czubajka kania (*Macrolepiota procera*), opieńka (*Armillaria* sp.), pieprznik jadalny (*Cantharellus cibarius*), mleczaj rydz (*Lactarius deliciosus*), mleczaj jodłowy (*L. salmonicolor*), gąska zielonka (*Tricholoma equestre*) i chroniony siedziuch sosnowy (*Sparassis crispa*).

Wszystkie te gatunki są dopuszczone do obrotu w Polsce, z wyjątkiem dwóch (*Boletus luridiformis* i *Sparassis crispa*). Pierwszy z nich jest gatunkiem zbieranym głównie w południowej Polsce, a uznawanym za niejadalny na większości terenów. Drugi jest gatunkiem chronionym, jednak bardzo cenionym za swój smak, często zbieranym i spożywanym w południowo-wschodniej Polsce. Badania będą kontynuowane i rozszerzone w 2014 i 2015 roku.

Fungi sold in the vegetable markets of the Rzeszów area (southeastern Poland)

Renata Kasper-Pakosz^{1,2*}, Łukasz Łuczaj³

¹ Secondary School in Leżajsk, 6 M. Skłodowskiej St., PL-37-300 Leżajsk

²International PhD Programme of the Polish Academy of Sciences
for Natural Sciences in Kraków; *renpak@op.pl

³University of Rzeszów, Institute of Applied Biotechnology and Basic
Sciences Department of Botany, Werynia 502, PL-36-100 Kolbuszowa;

In autumn 2013 all the mushrooms sold in the vegetable markets in three selected towns of southeastern Poland (Rzeszów, Jarosław, Leżajsk) were recorded during weekly visits.

Eighteen species were identified: *Boletus edulis*, *B. luridiformis*, *Xerocomus subtomentosus*, *X. badius*, *Leccinum scabrum*, *L. aurantiacum*, *Suillus variegatus*, *S. granulatus*, *S. grevillei*, *S. bovinus*, *S. luteus*, *Macrolepiota procera*, *Armillaria* sp., *Cantharellus cibarius*, *Lactarius deliciosus*, *L. salmonicolor*, *Tricholoma equestre* and *Sparassis crispa*.

All these species can be legally sold in Poland apart from two (*Boletus luridiformis* and *Sparassis crispa*). The former is a species collected mainly in southern Poland, regarded as inedible in most regions. The latter is a protected species, however it is highly appreciated for its taste and is often gathered and eaten in southeastern Poland. The study will be continued and extended in 2014 and 2015.

Wymiar fraktalny D, jako miara fragmentacji populacji gatunków grzybów

Kamil Kędra

Zachodniopomorskie Towarzystwo Przyrodnicze
ul. Wąska 13, 71-415 Szczecin; kamil_kedra@o2.pl

Stopień fragmentacji populacji jest jedną z miar zagrożenia gatunków wymarciem, stosowanych przez IUCN – wg podkryterium Ba (Categories and

Criteria, V. 3.1, IUCN 2001). Miara ta używana jest także w przypadku oceny zagrożenia populacji gatunków organizmów grzybowych. Uważa się, że zasięg gatunku podlega silnej fragmentacji, jeśli większość osobników występuje w niewielkich i izolowanych subpopulacjach (Dahlberg, Mueller 2011).

Istotna jest możliwość określenia stopnia fragmentacji populacji, a jednocześnie siedlisk wybranego gatunku, w sposób liczbowy. Umożliwia to porównywanie tej wielkości, obliczonej dla wielu populacji, a także populacji różnych gatunków. Biorąc pod uwagę fakt, że kryteria zagrożenia wymarciem IUCN (a także ich przedziały liczbowe) opracowane zostały jako uniwersalne dla wszystkich grup organizmów – możliwe jest porównywanie stopnia fragmentacji populacji gatunków należących do odmiennych grup systematycznych (np. grzybów i roślin), należy jednak brać pod uwagę różnice w sposobach i odległościach ich dyspersji.

Metodą określenia stopnia fragmentacji populacji w sposób liczbowy jest, w pierwszej kolejności: graficzne przedstawienie frekwencji badanej populacji w oparciu o (przynajmniej) dwie siatki kwadratów lub równoważnych jednostek o różnym rozmiarze oka siatki (w różnej skali) poprzez zaznaczenie pól siatki zajętych przez osobniki danego gatunku. Następnie, ustalenie stosunku frekwencji (Frequency Ratio, FR), jako stosunku liczby zajętych pól siatki w drobniejszej skali do liczby zajętych pól siatki w większej skali oraz obliczenie wymiaru fraktalnego D (jako wymiaru pudełkowego) przy pomocy poniższego wzoru (Hartley, Kunin 2003; Kędra 2013).

$$D = \log_x FR,$$

gdzie: $x = \frac{\text{powierzchnia kwadratu siatki w większej skali}}{\text{powierzchnia kwadratu siatki w drobniejszej skali}}$

Wymiar fraktalny charakteryzuje w sposób liczbowy stopień złożoności obiektu poprzez ocenę szybkości wzrostu mierzonej wielkości wraz z pomiarem w coraz drobniejszej skali (Gazda 1996), przyjmuje on wartości liczbowe od 0 do 2. Wysoka wartość wymiaru fraktalnego D oznacza wysoki stopień złożoności badanego obiektu, a w przypadku użycia go do określenia stopnia fragmentacji populacji zgodnie z opisaną metodą – ciągłość zasięgu występowania (niski stopień fragmentacji).

Na podstawie opisanej metody oraz danych zawartych w rejestrze grzybów chronionych i zagrożonych (GREJ, Snowarski 1997-2014) określono wymiar fraktalny D dla krajowych populacji dziesięciu gatunków grzybów wielkoowocnikowych, objętych w Polsce ochroną gatunkową (Tab. 1), pomiędzy skalami siatek kwadratów o boku 10 i 100 km (AtPol). Dla porównania przedstawiono analogiczne wyliczenie dla czterech gatunków roślin (storczykowatych *Orchidaceae*; rozmieszczenie stanowisk wg Zajac A. i Zajac M. 2001; Snowarski 2002-2014). Zarówno nasiona storczyków, jak i zarodniki grzybów są względnie małe, produkowane w dużych ilościach i w określonych warunkach niewielka ich część może podróżować na znaczne odległości (np. 1 000 km).

Tab. 1. Zestawienie wyników – wymiary fraktalne krajowych zasięgów wybranych gatunków chronionych grzybów wielkoowocnikowych i roślin storczykowatych [Summary of the results – fractal dimensions of national ranges of selected species of protected macrofungi and plants]

Nazwa łacińska [Species name]	Nazwa polska [Polish name]	Liczba zajętych kwadratów 10x10km (na ok. 3 600 możliwych) [Number of occupied 10x10km cells (of ca. 3 600 possible)]	Liczba zajętych kwadratów 100x100km (na 44 możliwe) [Number of occupied 100x100km cells (of 44 possible)]	Wymiar fraktalny [Fractal dimension] D (0, 2)
Grzyby [Fungi]				
<i>Fistulina hepatica</i>	ozorek dębowy	71	27	0.42
<i>Gaeastrum triplex*</i>	gwiazdosz potrójny	62	29	0.33
<i>Hericium coralloides</i>	soplówka bukowa	27	14	0.29
<i>Inonotus obliquus</i>	błyskoporek podkorowy	73	21	0.54
<i>Langermannia gigantea</i>	purchawica olbrzymia	66	21	0.50
<i>Meripilus giganteus</i>	wachlarzowiec olbrzymi	47	19	0.39
<i>Mutinus caninus</i>	mądziać psi	29	13	0.35
<i>Sarcodon squamosus</i>	sarniak sosnowy	34	18	0.28
<i>Sparassis crispa</i>	siedzuń sosnowy	136	32	0.63
<i>Strobilomyces strobilaceus</i>	szyszkowiec łuskowaty	51	18	0.45
Rośliny [Plants]				
<i>Cypripedium calceolus</i>	obuwik pospolity	246	34	0.86
<i>Epipactis helleborine</i>	kruszczyk szerokolistny	989	44	1.35
<i>Epipactis palustris</i>	kruszczyk błotny	706	44	1.21
<i>Liparis loeselii</i>	lipiennik Loesela	196	33	0.77

*stanowiska na podstawie opracowania (Kujawa et al. 2012) – zarówno aktualne jak i wcześniejsze (po 1945 r.) [localities acc. to Kujawa et al. (2012) – current and previous, after the year 1945]

Jednak, w obu przypadkach ogromna większość diaspor spada w bezpośredniej bliskości swojego źródła (ok. 1 m). Procent kiełkujących zarodników grzybów może być podobnie niski jak w przypadku nasion storczyków (ok. 1%), np. w przypadku soplówki bukowej *Hericium coralloides*, a sukces kolonizacji jest silnie uzależniony od zagęszczenia diaspor i obecności specyficznych warunków siedliskowych (Jonsson et al. 2005; Jersáková, Malinová 2007; Boddy et al. 2011).

Wszystkie przywołane gatunki grzybów (uważane za najczęściej spotykane

wśród aktualnie chronionych; wg Kujawy 2012) notują znacznie mniejszą liczbę zajętych pól o powierzchni 100 km² i znacznie niższe wymiary fraktalne zasięgu występowania (większą fragmentację populacji) niż wymienione, chronione gatunki kruszczyków: k. szerokolistnego i k. błotnego, a także niższe niż obliczone dla storczyków o znaczeniu wspólnotowym: lipiennika Loesela i obuwika pospolitego, dla których wyznacza się obszary siedliskowe sieci Natura 2000.

Przedstawione wyniki pokazały, że znaczny wzrost liczby znanych stanowisk chronionych gatunków grzybów, który nastąpił w ostatnich latach dzięki działalności mykologicznych baz danych opartych o aktywność dużej liczby amatorów (Barron 2011; Boddy et al. 2011), należy oceniać ostrożnie – gdyż mimo to, krajowe populacje omawianych gatunków grzybów podlegają silnej fragmentacji (co jest atrybutem gatunków zagrożonych). Ustalenie jednoznacznych progów liczbowych wymiaru D dla stopnia fragmentacji populacji wymaga dalszych badań, jednak na podstawie przedstawionych wyników przewiduje się, że za niepodlegające silnej fragmentacji można uznać populacje, których wymiar $D \gg 1,30$. Przykładem może być wymiar D obliczony dla zasięgu kruszczyka szerokolistnego (1,35), który aktualnie proponowany jest do przeniesienia z ochrony ścisłej do częściowej (Ministerstwo Środowiska 2014). Wartość wymiaru fraktalnego D uzależniona jest zarówno od liczby stanowisk gatunku, jak i przestrzennego ich rozmieszczenia i może być istotną przesłanką przy ustalaniu kategorii zagrożenia gatunku wg kryteriów IUCN (Hartley, Kunin 2003; Kędra 2013). Propozycja, aby za podlegające silnej fragmentacji uznać wyłącznie subpopulacje odległe od siebie o ponad 500 km (Dahlberg, Mueller 2011) powinna podlegać dalszej dyskusji, gdyż są istotne powody aby podejrzewać że nawet odległość kilkuset metrów, pozbawiona właściwych siedlisk dla gatunku, może stanowić znaczącą barierę (Jonsson et al. 2005; Dahlber, Mueller 2011; Boddy et al. 2011).

Fractal dimension D – as a measure of the fragmentation level of fungal species populations

Kamil Kędra

West Pomeranian Nature Society

13 Wąska St., PL-71-415 Szczecin; kamil_kedra@o2.pl

The level of population fragmentation is one of the measures for species extinction risk, used by the IUCN – according to subcriterion Ba (Categories and Criteria, V. 3.1, IUCN 2001). This measure is also used when it comes to evaluation of fungal species. It is said that the extent of occurrence is strongly fragmented, if the majority of individuals occur in small and isolated subpopulations (Dahlberg, Mueller 2011).

It is important to determine the degree of population fragmentation (and fragmentation of habitats) in a numerical way. This will allow comparisons between a number of populations and the populations of different species. Considering that the IUCN criteria (and the numbers of their thresholds) are

universal for all groups of organisms – it is possible to compare the fragmentation level of species populations belonging to different taxonomic groups (e.g. fungi and plants). In that case, the differences in the ways and distances of dispersion should be taken into account.

The method to numerically determine the degree of fragmentation is: firstly to make a graphical representation of the species frequency, based on (at least) two grids of squares or equivalent units of different cell size (in different scales) by marking the grid cells occupied by individuals of a given species. Then, to determine the Frequency Ratio (FR), as the ratio of the number of occupied grid cells in a finer scale to the number of occupied grid cells in a larger scale, and calculating the box-counting fractal dimension D by the formula given below (Hartley, Kunin 2003; Kędra 2013).

$$D = \log_x FR,$$

where: $X = (\text{large scale cell area} / \text{fine scale cell area})^{\frac{1}{2}}$

The fractal dimension D characterizes numerically the complexity of an object by estimating the growth rate of the measured value along with increasingly finer scale (Gazda 1996). It assumes values from interval [0, 2], high D value indicates a high degree of complexity of an object and, in the case of the use with described method – continuous range of distribution (low level of fragmentation).

Using described method and the data from the register of protected and endangered fungal species (GREJ, Snowarski 1997-2014) the fractal dimension D for the national populations of ten species of macrofungi (protected by Polish law) was determined (Tab. 1), between the scales of grids of 10 x 10 km and 100 x 100 km (AtPol grid). For comparison, the analogous calculation have been made for several plant species (orchids, *Orchidaceae*; distribution acc. to Zajac A. and Zajac M. 2001; Snowarski 2002-2014). Both the seeds of orchids and fungal spores are relatively small, produced in large quantities and, under certain conditions, a small proportion of diaspores may travel considerable distances (e.g. 1 000 km). However, in both cases the vast majority of propagules fall in the vicinity of its source (approximately 1 m). The percentage of germination of fungal spores may be similarly low as in the case of seeds of orchids (ca. 1%), e.g. in the case of *Hericum coralloides*, and the success of colonization is strongly dependent on the density of diaspores and the presence of specific habitat conditions (Jonsson et al. 2005; Jersáková, Malinová 2007; Boddy et al. 2011).

All aforementioned species of fungi (considered to be the most frequent among currently protected by law in Poland, according to Kujawa 2012) record much smaller numbers of occupied 100 km² grid cells and much lower values of fractal dimensions (higher level of population fragmentation) than mentioned, protected *Epipactis* species: *E. helleborine* and *E. palustris* and also lower than D calculated for orchids of EU Community Importance: *Liparis loeselii* and *Cypripedium calceolus*, whose conservation requires the designation of special areas of conservation (Natura 2000 network).

The results indicate that the strong increase in the number of known localities of protected species of fungi, which occurred in recent years thanks

to the activity of mycological online databases supported by a large number of amateurs (Barron 2011; Boddy et al. 2011), should be judged carefully – because, despite this, the national populations of these species are subject to strong fragmentation (which is a trait of endangered species). The establishment of strict numerical thresholds for the dimension D as a measure of population fragmentation requires further study, however, on the basis of the results presented it is predicted that the dimension $D \gg 1.30$ can signify a continuous range of a species (not severely fragmented population). As an example, the dimension D for the range of *Epipactis helleborine* (1.35) is given – the species is currently proposed to move from the strict to partial protection (Ministry of the Environment 2014). The value of D depends on the number of localities of a species and their spatial distribution, therefore it may be an important input in determining the IUCN extinction risk category (Hartley, Kunin 2003; Kędra 2013). The proposals to consider a fungal species population as severely fragmented, only when the distances between subpopulations exceed 500 km (Dahlber, Mueller 2011) should be the subject of further discussion, as there are reasons to suspect that even the distance of several hundred meters, without appropriate habitat for the species, can be a significant barrier (Jonsson et al. 2005; Boddy et al. 2011; Dahlber, Mueller 2011).

Barron, E.S. 2011. The emergence and coalescence of fungal conservation social networks in Europe and the U.S.A. *Fungal Ecol.* 4: 124-133.

Boddy L., Crockatt M.E. and Ainsworth A.M. 2011. Ecology of *Hericium cirrhatum*, *H. coralloides* and *H. erinaceus* in the UK. *Fungal Ecol.* 4:163-173.

Dahlberg A., Mueller G.M., 2011. Applying IUCN red-listing criteria for assessing and reporting on the conservation status of fungal species. *Fungal Ecol.* 4: 147-162.

Gazda A. 1996. Geometria fraktali i niektóre jej zastosowania w ekologii (The geometry of fractals and its applications in ecology). *Wiad. Ekol.* XLII (3): 163-178.

Hartley S., Kunin W.E. 2003. Scale dependency of rarity, extinction risk and conservation priority. *Conserv. Biol.* 17: 1559-1570.

IUCN. 2001. IUCN Red List Categories and Criteria, Version 3.1. IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, U.K.

Jersáková J., Malinová T. 2007. Spatial aspects of seed dispersal and seedling recruitment in orchids. *New Phytologist* 176(2) 237-241.

Jonsson B.G., Kruys N., Ranius T. 2005. Ecology of species living on dead wood – Lessons for dead wood management. *Silva Fennica* 39(2): 289-309.

Kędra K. 2013. Miary rzadkości i zagrożenia gatunków, zależność od skali – na przykładach gatunków grzybów (Scale-sensitive measures of rarity and extinction risk: a case study of fungal organisms). *Przegląd Przyr.* XXIV(3): 27-44.

Kujawa A. 2012. Analiza spełnienia kryteriów kwalifikujących do ochrony przez poszczególne gatunki grzybów. In: Kepel A. (Red.). Aktualizacja listy gatunków grzybów objętych ochroną gatunkową oraz wskazania dla ich

ochrony. PTOP Salamandra.

Kujawa A., Gierczyk B., Chachuła P., Karg J., Halama M., Gryc M. 2012. Współczesne występowanie gwiazdosza potrójnego (*Gaeastrum triplex*) w Polsce i ocena jego zagrożenia (*Gaeastrum triplex* in Poland – present-day occurrence, distribution and assessment of its threatened status). Parki Nar. Rez. Przyn. 31(1): 3-15.

Ministerstwo Środowiska. 2014. Projekt rozporządzenia Ministra Środowiska w sprawie ochrony gatunkowej roślin, z dn. 9 czerwca 2014.

Snowarski M. 1997-2014. Atlas grzybów Polski (Mushrooms and Fungi of Poland): <http://www.grzyby.pl/index.html>.

Snowarski M. 2002-2014. Atlas roślin naczyniowych Polski (Atlas of vascular plants of Poland): <http://www.atlas-roslin.pl/pelna/index.html>.

Zajac A., Zajac M. (Eds.) 2001. Atlas rozmieszczenia roślin naczyniowych w Polsce (Distribution Atlas of Vascular Plants in Poland). Pracowni Chorologii Komputerowej Instytutu Botaniki UJ Kraków.

Zróźnicowanie fizjologiczne ektomykoryz – ocena na podstawie aktywności enzymatycznej

Barbara Kieliszewska-Rokicka*, Anna Frymark-Szymkowiak
Instytut Biologii Środowiska, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego
al. Ossolińskich 12, 85-093 Bydgoszcz; *bkiel@ukw.edu.pl

Korzenie wielu gatunków drzew leśnych są skolonizowane przez zróźnicowane taksonomicznie zbiorowiska grzybów ektomykoryzowych, które pełnią kluczową rolę w odżywianiu drzew przez rozkład materii organicznej, uwalnianie pierwiastków i ich transport do korzeni. Struktura gatunkowa zbiorowisk ektomykoryzowych symbiontów drzew była badana szeroko u różnych gatunków drzew, w różnych typach drzewostanów i w różnych warunkach środowiska, natomiast wiedza na temat funkcjonowania zbiorowisk ektomykoryzowych jest słabiej poznana. Wyniki badań prowadzonych w warunkach laboratoryjnych pokazują, że gatunki i szczepy grzybów różnią się zdolnością do produkcji enzymów, a różnorodność gatunkowa grzybów mykoryzowych związanych z siewkami lub sadzonkami drzew wpływa korzystnie na pobieranie kluczowych pierwiastków odżywczych i produktywność roślin. Grzyby ektomykoryzowe uwalniają pokarmy nieorganiczne z organicznych kompleksów przez wydzielanie do podłoża enzymów hydrolitycznych i utleniających. Zbiorowiska grzybów mykoryzowych wpływają na procesy glebowe poprzez obfitość ektomykoryz, różnorodność i skład gatunkowy mykobiontów oraz ich aktywność fizjologiczną. Analizy aktywności enzymatycznej poszczególnych typów ektomykoryz umożliwiają ocenę potencjalnej zdolności fizjologicznej zbiorowisk mykobiontów związanych z pojedynczymi drzewami lub drzewostanami. Aktywność enzymatyczna ektomykoryz, tworzonych przez ten sam grzyb, może zmieniać się wraz z warunkami ekologicznymi, związanymi z porą roku, fenologią drzewa, warunkami klimatycznymi i wpływem czynników antropogenicznych.

Physiological diversity of ectomycorrhizas – estimation based on enzyme activity

Barbara Kieliszewska-Rokicka*, Anna Frymark-Szymkowiak
Institute of Environmental Biology, Kazimierz Wielki University
12 Ossolińskich Av., PL-85-093 Bydgoszcz; *bkiel@ukw.edu.pl

Roots of many forest tree species are colonized by taxonomically diverse communities of ectomycorrhizal (ECM) fungi, playing a key role in tree nutrition by decomposition of organic matter, mobilizing and transport mineral nutrients to the roots. Taxonomical structure of ECM communities of trees have been widely investigated in various tree species, in different types of forest, under different environmental conditions, while the knowledge on physiological functioning of ECM communities is still poorly understood. The results conducted under laboratory conditions indicated that species and strains of ECM fungi differ in their ability to produce enzymes, and that taxonomic variability of mycobionts associated with tree seedlings or plantlets positively influence the accumulation of key nutrients and the plants productivity. ECM fungi mobilize inorganic nutrients from organic complexes by the release to the soil substrate hydrolytic and oxidizing exo-enzymes. Communities of ECM fungi affect the soil processes and tree nutrition by ectomycorrhizas abundance, variability and species composition, and by their physiological activity. Analyses of enzyme activity of particular ECM taxa make possible evaluation of the potential physiological ability of mycorrhizal communities associated with a single tree or a forest stand. Enzyme activity of ectomycorrhizas developed by the same fungal species may differ in variable ecological conditions related to seasons, tree phenology, climatic conditions, influence of anthropogenic factors.

Znaczenie grzybów i organizmów grzybobodobnych dla ekosystemów wodnych

Bożena Kiziewicz*, Anna Godlewska, Elżbieta Muszyńska
Zakład Biologii Ogólnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Mickiewicza 2C, 15-222 Białystok; *bozena.kiziewicz@umb.edu.pl

Grzyby i organizmy grzybobodobne występują powszechnie w różnego typu wodach słodkich i zasiedlają jako saprotrofy różnorodne podłoża. Odgrywają one kluczową rolę w tych ekosystemach ponieważ uczestniczą w rozkładzie materii organicznej. Biorą udział w mineralizacji obumarłych fragmentów roślin i zwierząt występujących w zbiornikach wodnych. Grzyby i organizmy grzybobodobne mogą być również potencjalnymi pasożytami. Często występują na swoich gospodarzach. Jako saprobionty w sprzyjających warunkach, mogą nabywać właściwości chorobotwórczych i wówczas stają się potencjalnym źródłem infekcji. W wodach płynących i stojących występuje wielu przedstawicieli klasy Oomycetes. Oomycetes jest to grupa organizmów,

którą można znaleźć na całej kuli ziemskiej, zarówno w wodach powierzchniowych, jak i w wodach słonych, a także w środowiskach lądowych. Większość organizmów grzybopodobnych z Oomycetes dobrze rośnie w wodzie słodkiej, przede wszystkim w silnie napowietrzonych strumieniach, rzekach, stawach i jeziorach. W tych siedliskach najczęściej występują one na płycznach w pobliżu brzegów zbiorników wodnych. Oomycetes w wodach stojących wykazują nieraz charakterystyczne zbiorowiska, gdzie kilka gatunków okazało się być fakultatywnymi beztlenowcami. Większość form wodnych to saprobionty, które kolonizują martwe fragmenty roślin i zwierząt i jako grupa odgrywają znaczącą rolę w degradacji i recyklingu składników odżywczych, znajdujących się w zbiornikach wodnych. Istnieją też pasożytnicze gatunki, które atakują niektóre gatunki glonów, a także zwierzęta bezkręgowce, takie jak wrotki, nicienie, larwy komarów, a nawet raki. Część z nich stanowią pasożyty kręgowców, takich jak płazy i ryby. Stwierdzenie w wodach powierzchniowych grzybów i organizmów grzybopodobnych daje również możliwość wykorzystania ich jako wskaźników czystości i bioindykatorów potencjalnego zagrożenia sanitarno-epidemiologicznego wód.

The role fungi and fungus-like organisms in water ecosystems

Bożena Kiziewicz*, Anna Godlewska, Elżbieta Muszyńska

Department of General Biology, Medical University of Białystok

2C Mickiewicza St., PL-15-222 Białystok; *bozena.kiziewicz@umb.edu.pl

The fungi and fungus-like organisms are universally present in all types of water ecosystems and occur as saprotrophs on a wide variety of substrata, playing a key role in those ecosystems as decomposers of organic materials. They mineralize necrosis substrates such as fragments of animals and plants, which occurring in water bodies. The fungi and fungus-like organisms can be as well as optional parasites. They often occurs on their hosts.

Water mold constitute a common group of organisms found in a variety of water ecosystems. In favorable conditions, water mold acting as saprobionts can assume pathogenic properties, being a potential source of infection. In running and stagnant waters a lot of representatives of water moulds of the class Oomycetes are met. The Oomycetes are common group of organisms found all over the world in both fresh and salt waters as well as in terrestrial environments. Most of the fungus-like organisms from Oomycetes – commonly are growing in fresh water, primarily in well-aerated streams, rivers, ponds, and lakes. Within these habitats they are most common in shallow waters near the bank or shore of water bodies. Stagnant waters sometimes exhibit distinctive communities of Oomycetes, and a few species have been shown to be facultative anaerobes. Most of the aquatic forms are saprobionts on the remains of dead plants and animal and as a group, are through to play a major role in the degradation and recycling of nutrients in water bodies. There are however, some parasitic species that attack either species of algae or assorted invertebrate animals such as rotifers, nematodes, mosquito larvae, and

even crayfish. A few are significant parasites of vertebrate animals such as amphibians and fish.

Presence of those fungi and fungus-like organisms in the waters ecosystems offers also the possibility of using them as indicators of water purity and bioindicators of potential sanitary and epidemiological hazard.

Grzyby wodne związane z glonami – stan zbadania w Polsce

Piotr Knysak*, Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska,

Joanna Żelazna-Wieczorek

Katedra Algologii i Mykologii, Uniwersytet Łódzki

ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; *piotrknysak@gmail.com

Badania powiązań ekologicznych grzybów wodnych oraz glonów to dziedzina naukowa łącząca elementy dwóch nauk, algologii i mykologii. Mimo dobrego stanu rozpoznania tych dwóch dziedzin część wspólna z zakresu hydromykologii pozostaje poza głównym nurtem zainteresowania badaczy, m.in. ze względu na trudności w identyfikacji taksonomicznej oraz stosunkowo krótki okres występowania masowych porażań mikroglonów przez grzyby wodne. Jednakże ta tendencja wydaje się zmieniać, a przyczyną może być coraz większe zainteresowanie oceną stanu ekologicznego i jakości ekosystemów wodnych, m.in. na podstawie właściwości bioindykacyjnych okrzemek fitobentosowych oraz zielenic, z którymi związana jest duża liczba grzybów pasożytniczych. W ostatnich dekadach zaczęto również doceniać i wyjaśniać znaczenie grzybów hydrosfery w funkcjonowaniu sieci pokarmowych. Rola grzybów wodnych (pasożytów, saprotrofów, symbiontów) jest silnie związana z regulacją liczebności organizmów planktonowych (m.in. zjawisko epifitozy) oraz z dekompozycją materii organicznej, w tym związków trudno rozkładalnych. Nadal jednak najslabiej poznanym elementem biologii grzybów związanych troficznie z glonami są ich wymagania ekologiczne.

Historia badań nad grzybami związanymi z glonami sięga w Polsce drugiej połowy XIX wieku, kiedy swoje prace publikowali Leon Nowakowski i Marian Raciborski. Później, w drugiej połowie XX wieku, badania grzybów związanych troficznie z glonami rozwijali prof. Joanna Z. Kadłubowska (twórca Zakładu Algologii, Uniwersytet Łódzki) i dr Andrzej Batko (Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski), którego „Zarys Hydromykologii” (Batko 1975) miał istotny wpływ na rozwój hydromykologii, a do dzisiaj jest podstawą przy wyborze metod badawczych i podczas identyfikacji taksonomicznej grup grzybów wodnych, jednocześnie stanowiąc kompendium wiedzy o ich ekologii. Kadłubowska swój pierwszy artykuł poświęcony grzybom-pasożytom glonów opublikowała w 1968 roku, a łącznie przygotowała 10 publikacji dotyczących grzybów zaobserwowanych na zielenicach i okrzemkach (por. Żelazna-Wieczorek i Ruszkiewicz-Michalska 2013). Na podstawie własnych materiałów Kadłubowska opisała dwa nowe gatunki należące do *Chytridiomycetes*: *Micromyces bulbosus* (Kadłubowska 1999) i *Chytridium caloneidis* (Kadłubowska 2001).

Pozostałe polskie dane o grzybach związanych troficznie z glonami są w większości przypadkowe i zbierane podczas badań hydromykologicznych w różnych ekosystemach wodnych. Pochodzą one z licznych prac publikowanych głównie przez zespół prof. Bazylego Cieczugi (Uniwersytet Medyczny w Białymstoku). Większość z tych informacji dotyczy obszaru Polski północno-wschodniej, a niektóre obejmują również grzyby niebędące pasożytami, a jedynie występujące na plesze glonów i na jej wytworach.

Aquatic fungi associated with algae – state of the art

Piotr Knysak*, Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska,

Joanna Żelazna-Wieczorek

Department of Algology and Mycology, Faculty of Biology and
Environmental Protection, University of Łódź, 12/16 Banacha St., PL-90-237
Łódź; *piotrknysak@gmail.com

Studies of the ecological interactions between aquatic fungi and algae is a scientific discipline composed of elements of algology and mycology. Despite their good state of the art, the common area related to hydromycology is mostly outside of the interest of the researchers. Mainly, because of the difficulties in taxonomic identification and a relatively short period of existence of fungi-infected microalgae. However, such tendency seems to be alternating. It is due to the increased popularity of ecological assessment aspects and water quality studies. They are based on bioindicative properties of phytobenthic diatoms and green algae, in some cases strongly affected by parasitic fungi. In the recent decades, researchers began to appreciate and explain the importance of fungi functioning in the food webs. The role of aquatic fungi (parasites, saprotrophs, symbionts) is greatly associated with the regulation of the number of planktonic organisms (e.g. epiphytotics) and the decomposition of organic matter, including hardly decomposable compounds. Yet, fungal-algal trophic associations are the least-known part of the biology of fungi and their ecological requirements.

The history of hydromycological studies in Poland dates back to the second half of the XIXth century, to the publications of the Leon Nowakowski and to the Marian Raciborski.

In the second half of the XXth century the studies were carried out in particular by the prof. Joanna Z. Kadłubowska (the funder of the Algology Department of the University of Lodz) and the dr Andrzej Batko (Faculty of the Biology of the University of Warsaw) who published ‘Zarys Hydromykologii’ (Batko 1975). This book had a significant impact on the development of the hydromycology field, especially in the taxonomic identification. It is also unique source of the knowledge about aquatic fungi ecology and research methods. Kadłubowska’s first article dedicated to the parasitic fungi of algae was published in 1968.

In addition, a total of 10 publications were prepared for the fungi observed on the green algae and diatoms (Żelazna-Wieczorek and Ruszkiewicz-Michalska 2013). On the basis of her own materials prof. Kadłubowska

described two new species belonging to *Chytridiomycetes*: *Micromyces bulbosus* (Kadłubowska 1999) and *Chytridium caloneidis* (Kadłubowska 2001).

Rest of the available data on fungi associated with algae are mostly unspecific and collected during the hydromycological studies of various aquatic ecosystems. They come in numerous papers published mainly by prof. Bazyli Cieczuga's research team (Medical University of Białystok). Most of this information relates to the north-eastern Polish areas, whereas some of them include biological data of non-parasitic fungi occurring e.g. epiphytically on algal thallus.

Batko A. 1975. *Zarys hydromykologii*. PWN. Warszawa, 1-478.

Kadłubowska J. Z. 1999. *Micromyces bulbosus* sp. nov. *Acta Mycol.* 34: 177-180.

Kadłubowska J. Z. 2001. *Chytridium caloneidis* sp. nov. *Acta Mycol.* 36: 3-6.

Żelazna-Wieczorek J., Ruszkiewicz-Michalska M. 2013. *Professor Joanna Zofia Kadłubowska – combining algology and mycology*. *Wiadomości Botaniczne* 57 (3/4): 64-76.

Eliminacja estrogenów naturalnych przez grzyby mikroskopowe

Kamila Kowalczyk¹, Magda Abu Aitah¹, Przemysław Bernat^{2*},
Jerzy Długoński²

¹Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki

²Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i
Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

*pbernat@biol.uni.lodz.pl

Wstęp. Estrogeny naturalne to hormony płciowe odpowiedzialne za powstawanie i utrzymanie cech płci żeńskiej. Estron (E1), 17 β -estradiol (E2) i estriol (E3) pojawiają się zazwyczaj w środowisku wodnym na stosunkowo niskim poziomie stężeń, ale na tyle wystarczającym, aby niekorzystnie wpływać na procesy rozrodcze i rozwój organizmów. Trafiają one do środowiska wraz z miejskimi ściekami, odpadami rolniczymi a także w wyniku leczenia hormonalnego ludzi i zwierząt. Obecnie skuteczność eliminacji estrogenów naturalnych przy użyciu powszechnie stosowanych technologii biologicznych jest ograniczona. W związku z tym należy szukać biologicznych metod do ich eliminacji. Jedną z obiecujących metod jest degradacja z wykorzystaniem grzybów mikroskopowych.

Cel. Celem przeprowadzonych badań było poszerzenie wiedzy na temat mechanizmów eliminacji estrogenów naturalnych przez drobnoustroje na przykładzie grzyba strzępkowego *Trichoderma atroviride*.

Materiały i metody. Do badań został użyty mikroskopowy grzyb strzępkowy *Trichoderma atroviride* QF10. Hodowlę badanego szczepu prowadzono na wytrząsarce obrotowej przez 5 dni (140 obr/min.), w temperaturze 28°C, na

podłożu Sabouraud bez dodatku lub z dodatkiem β -estradiolu (10 mg/L). Po zakończeniu inkubacji, w celu przygotowania prób do analizy zawartości badanego związku w hodowli, przeprowadzono ekstrakcję metodą QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe) z udziałem acetonitrylu i mieszaniny soli zawierającej: chlorek sodu, uwodniony wodorocytrynian disodu, uwodniony cytrynian trisodu oraz bezwodny siarczan magnezu. Analizę jakościową i ilościową wyekstrahowanego β -estradiolu oraz związków pochodnych wykonano z użyciem chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC/MS/MS).

Wyniki. Zawartość β -estradiolu w badanych próbach, w porównaniu do stanu wyjściowego, zmniejszyła się. Zaobserwowano przekształcenie E2 do estronu, a także oznaczono siarczki estronu oraz glukuronidy estronu i β -estradiolu. Stwierdzono również, że β -estradiol (10mg/L) nie hamuje wzrostu badanego szczepu *Trichoderma atroviride*.

Wnioski. Otrzymane wyniki wstępnie potwierdzają możliwość zastosowania mikroskopowego grzyba strzępkowego *Trichoderma atroviride* do eliminacji estrogenów naturalnych.

Praca była finansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki nr UMO 2011/01/B/NZ9/02898.

Elimination of natural estrogens by microscopic fungi

Kamila Kowalczyk¹, Magda Abu Aitah¹, Przemysław Bernat²,
Jerzy Długoński²

¹Biotechnology and Microbiology Students Society “Bio-Mik”

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology
Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź

²Department of Industrial Microbiology and Biotechnology

Faculty of Biology and Environmental Protection

12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź; *pbernat@biol.uni.lodz.pl

Introduction. Natural estrogens are a group of hormones responsible for the growth and development of female sexual characteristics. Estron (E1), 17 β -estradiol (E2) and estriol (E3) appear in aquatic environments in relatively small concentrations, which are enough to adversely affect reproductive systems and the development of organisms. They are discharged into the environment as a result of using of a wide variety of drugs, as production wastes and activated sludge. At present, the effectiveness of commonly used technological elimination processes is limited. It is, therefore, essential that we search for new biological methods of estrogen elimination. Degradation of natural estrogens by microscopic fungi appears to be a promising method.

Aim. The purpose of this study was to increase our knowledge of the mechanisms involved in the elimination of natural estrogens by microorganisms. To achieve this objective fungal strain *Trichoderma atroviride* QF10 was applied.

Materials and methods. The microscopic filamentous fungus *Trichoderma atroviride* QF10 was used in this study. The culture was incubated for 5 days

in Sabouraud medium with or without the addition of β -estradiol (10 mg/L) in a rotary shaker (140 rpm) at 28°C. After incubation, samples were prepared according to the QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) extraction method. Then, a sensitive method for simultaneous detection of β -estradiol and its conjugates was developed using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC/MS/MS).

Results. The amount of β -estradiol in the test samples has decreased compared to the initial state. The main metabolite obtained in the fungal culture was estrone. Additionally, other metabolites, such as estrone sulphate, estradiol glucuronides and estron glucuronides were identified. It was also noted that β -estradiol (10mg/L) did not inhibit the growth of the test strain *Trichoderma atroviride*.

Conclusions. The preliminary results confirm the possibility of using *Trichoderma atroviride* in the elimination of natural estrogens.

This study was supported by the National Centre for Science in Krakow, Poland (Project No. UMO-2011/01/B/NZ9/02898).

Micromycetes na liściach roślin wrzosowatych *Ericaceae*

Maria Kowalik*, Joanna Bonio, Klaudia Duda

Katedra Ochrony Roślin

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków; *m.kowalik@ogr.ur.krakow.pl

Badania przeprowadzono w kolekcji roślin wrzosowatych Ogrodu Botanicznego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie i w Arboretum SGGW w Rogowie. Analizami mykologicznymi objęto rośliny bagna zwyczajnego *Ledum palustre* L., chamedafne północnej *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench i żurawiny wielkoowocowej *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pursh.

Z liści bagna zwyczajnego wyodrębniono 160 kolonii mikromycetes, należących do 16 gatunków. Wśród nich dominowały: *Pestalotiopsis sydowiana*, *Alternaria alternata* i *Epicoccum nigrum*. Pięć gatunków było wspólnych dla bagna zwyczajnego w ogrodzie botanicznym i w arboretum. Stwierdzono porównywalny stopień zasiedlenia przez grzyby liści bagna zwyczajnego na obydwu stanowiskach.

Na liściach chamedafne północnej bytowało 187 kolonii mikromycetes, należących do 18 gatunków. Wśród sprawców zamierania liści główną rolę odegrał *P. sydowiana*. Licznie wystąpiły: *Pestalotia rhododendri*, *A. alternata*, *E. nigrum*, *Umbelopsis isabellina*, *Sordaria fimicola*, *Ph. cyclaminis* i *Phoma medicaginis*. Zamieranie liści chamedafne północnej w ogrodzie botanicznym powodowało 17 gatunków grzybów, a w arboretum 10 gatunków, przy porównywalnej liczbie kolonii. Siedem gatunków grzybów było wspólnych dla liści chamedafne na obydwu stanowiskach.

Z liści żurawiny wielkoowocowej wyizolowano 236 kolonii grzybów strzępkowych, należących do 16 gatunków. Dominował *P. sydowiana*, licznie wystąpiły *P. rhododendri* i *A. alternata*. Większą różnorodnością gatunkową

grzybów charakteryzowała się fyllosfera żurawiny wielkoowocowej w ogrodzie botanicznym.

Nie stwierdzono zwiększonej liczebności kolonii grzybów na liściach roślin wrzosowatych pod koniec okresu wegetacyjnego. Cztery gatunki: *A. alternata*, *E. nigrum*, *P. sydowiana* i *P. rhododendri* bytowały na liściach wrzosowatych w obydwu latach badań, zarówno w ogrodzie botanicznym, jak i w arboretum.

Zbiorowiska mikromycetes bytujących na liściach roślin wrzosowatych w ogrodzie botanicznym i w arboretum różniły się składem gatunkowym i liczbą kolonii. Zamieranie liści roślin wrzosowatych powodował kompleks grzybów strzępkowych, wśród których dominującą rolę odegrał nekrotrof *Pestalotiopsis sydowiana* (Bres.) B. Sutton. Stwierdzono porównywalny stopień zasiedlenia roślin wrzosowatych przez mikromycetes na obydwu stanowiskach. Podjęte badania mogą przyczynić się do zachowania roślin chronionych i zagrożonych we florze polskiej.

Micromycetes on ericaceous plants leaves

Maria Kowalik*, Joanna Bonio, Klaudia Duda

Department of Plant Protection, University of Agriculture in Krakow
21 Mickiewicza Av., PL-31-120 Kraków; *m.kowalik@ogr.ur.krakow.pl

The studies were carried out on the collection of plants of the *Ericaceae* family at the Jagiellonian University Botanical Garden and the Rogow Arboretum of the Warsaw University of Life Sciences. Mycological analyses were conducted on Wild rosemary *Ledum palustre* L., Leatherleaf *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench and American cranberry *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pursh. The sources of the research material were leaves with visible necrosis, collected in May, July and September 2012 and 2013. From 240 leaf fragments on a Petri dish with a 2% PDA medium (potato-dextrose-agar), many micromycetes were isolated.

The aim of the studies was to determine the species composition of micromycetes inhabiting the leaves of ericaceous plants and a comparative mycobiota quantitative analysis and that of species at two states.

Differences between the species composition and the number of micromycetes colonies gathering on Wild rosemary, Leatherleaf and American cranberry leaves from the botanical garden and arboretum were found.

160 *Micromycetes* colonies belonging to 16 species were isolated from 240 infected leaf fragments. The fungi caused leaf necrosis, defoliation and dieback in effect. The dominant fungi were: *Pestalotiopsis sydowiana* (over 35 % of all fungi colonies), *Alternaria alternata* and *Epicoecum nigrum*. Leatherleaf in the botanical garden and arboretum consisted of the same five species: *A. alternata*, *E. nigrum*, *Penicillium expansum*, *P. sydowiana* and *Phialophora cyclaminis*. The leaves of Leatherleaf in two states were comparatively infected by mycobiota.

Dying Leatherleaf leaves were inhabited by 187 micromycetes colonies within 18 species. The most numerous (almost 30% of total colonies) was *P.*

sydowiana, *Pestalotia rhododendri*, *A. alternata*, *E. nigrum*, *Umbelopsis isabellina*, *Sordaria fimicola*, *Ph. cyclaminis* and *Phoma medicaginis* were also numerous, making up more than 57% of the total fungi community. Dieback of Leatherleaf leaves in the botanical garden was caused by 17 fungi species but by 10 species in the arboretum at a comparable number of colonies. Seven fungi species were common for Leatherleaf in the botanical garden and arboretum, including: *A. alternata*, *E. nigrum*, *Ph. cyclaminis*, *P. rhododendri*, *P. sydowiana*, *S. fimicola* and *U. isabellina*.

236 filamentous fungi colonies belonging to 16 species were isolated from the infected and brown American cranberry phyllosphere. The dominant fungus was *P. sydowiana*, which formed almost 60% of the isolated colonies. There were many colonies of *P. rhododendri* and *A. alternata* isolated, and several genera occurred less frequently: *Giberella*, *Epicoccum*, *Phialophora* and *Sordaria*. The species *A. alternata*, *E. nigrum*, *Giberella stilboides*, *P. rhododendri* and *P. sydowiana* were common in the botanical garden and arboretum. American cranberry in the botanical garden was characterised by a diversity of fungi species.

Many fungi species constantly infected ericaceous plant leaves during the growing period. There wasn't an increased number of fungal colonies on the leaves of ericaceous plants at the end of the growing season. Only four *Micromycetes* species in both years and places were found on leaves of the tested plants: *A. alternata*, *E. nigrum*, *P. sydowiana* and *P. rhododendri*.

In summary:

- Micromycetes communities inhabiting the leaves of Wild rosemary *Ledum palustre* L., Leatherleaf *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench and American cranberry *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pursh., growing in the Jagiellonian University Botanical Garden and Rogow Arboretum of the Warsaw University of Life Sciences, differed in species composition and the number of colonies.
- Leaf dieback of Wild rosemary, Leatherleaf and American cranberry was caused by a complex of filamentous fungi, among which *Pestalotiopsis sydowiana* (Bres.) B. Sutton played the dominant role.
- There was a comparable rank of ericaceous plant settlement by *Micromycetes* in the botanical garden and arboretum.
- Considering the ericaceous plants in relation to the environment, we can assume that *Micromycetes* pressure increased in unnatural environments.
- Research can contribute to the conservation of protected and endangered plants of Polish flora.

Micromycetes na liściach róż pnących Rosa L. w Ogrodzie Botanicznym Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Maria Kowalik*, Klaudia Duda

Katedra Ochrony Roślin, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja
w Krakowie, Al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków;

*m.kowalik@ogr.ur.krakow.pl

Źródło materiału badawczego stanowiły liście róż pnących z objawami nekrozy, pobrane w latach 2011-2013. Mikromycetes izolowano z 1350

fragmentów liści wyłożonych na szalki Petriego z 2% pożywką PDA. Z porażonych fragmentów liści wyodrębniono 1200 kolonii mikromycetes, należących do 65 gatunków. W kolejnych latach wyodrębniono 320, 412 i 468 kolonii grzybów należących do 27, 45 i 39 gatunków.

Do grupy dominantów zaliczono: *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, *Pestalotia rosae*, *Phoma leveillei* i *Diplocarpon rosae*. W grupie influentów znalazły się: *Arthrimum sphaerospermum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Chaetomium funicola*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Ilyonectria radicola*, *Mortierella hyalina*, *M. parvispora*, *Penicillium brevicompactum*, *P. herquei*, *P. expansum*, *P. glabrum*, *Pestalotiopsis sydowiana*, *Phialophora cyclaminis*, *Pleurostomophora richardsiae* oraz *Sordaria fimicola*. Do grupy grzybów akcesorycznych zaliczono gatunki należące do rodzajów: *Acremonium*, *Coelophoma*, *Davidiella*, *Gliomastix*, *Humicola*, *Isaria*, *Mortierella*, *Mucor*, *Nectria*, *Oidiodendron*, *Paraphoma*, *Phoma*, *Rhizopus*, *Sphaceloma*, *Stemphylium*, *Thanathephorus*, *Trichothecium*, *Umbelopsis* oraz inne.

Z tkanek z objawami nekrozy wyodrębniono liczne kolonie *D. rosae*, powodującego czarną plamistość róż oraz kilka kolonii *Sphaceloma rosarum*, wywołującego antraknozę róż. Cztery gatunki grzybów, w czasie wegetacji stale zasiedlały liście róż, były to: *A. alternata*, *C. cladosporioides*, *Ph. leveillei* oraz *D. rosae*. Od sierpnia do października na liściach stale bytowały *P. rosae* i *Ch. funicola*. W październiku, w dwu pierwszych latach badań, stwierdzono kilkakrotnie większą liczebność kolonii mikromycetes, niż w czerwcu. W trzech latach badań wyizolowano 58 kolonii *P. rosae*. Monofag ten dotychczas nie był podawany w literaturze polskiej.

Zbiorowiska mikromycetes bytujących na liściach róż pnących *Rosa* L. rosnących w Ogrodzie Botanicznym UJ, w trzech kolejnych latach badań, różniły się składem gatunkowym i liczbą kolonii. Zamieranie liści róż pnących powodowały liczne mikromycetes, wśród których dominującą rolę odegrał patogen *D. rosae* oraz nekrotrofy *A. alternata*, *E. nigrum* i *S. fimicola*. Mikromycetes bytujące na liściach róż pnących w znacznym stopniu obniżyły walory dekoracyjne roślin.

Micromycetes on climbing rose leaves *Rosa* L. in the Jagiellonian University Botanical Garden in Kraków

Maria Kowalik*, Klaudia Duda

Department of Plant Protection, University of Agriculture in Krakow
21 Mickiewicza Av., PL-31-120 Kraków; *m.kowalik@ogr.ur.krakow.pl

The studies were carried out in the Jagiellonian University Botanical Garden in Krakow. Mycological analyses were conducted on 20 cultivars of climbing roses. The sources of the research material were leaves with necrosis, collected in June, August and October 2011-2013. Micromycetes were isolated

from 1350 leaf fragments on a Petri dish with a 2% PDA medium (potato-dextrose-agar).

The research aimed at determining the species composition of micromycetes existing on climbing roses leaves and causing dieback.

We found that the species composition and the number of colonies of the micromycetes communities inhabiting the leaves of climbing roses varied in different years. 1200 fungi colonies were isolated from the infected fragments of climbing rose leaves, belonging to 65 species. In the following years 320, 412 and 468 fungi colonies were isolated belonging to 27, 45 and 39 species, respectively. The fungi were the cause of necrosis and contributed to defoliation. The dominant fungi group (above 5% of all the micromycetes colonies) included five species: *Alternaria alternata* (over 30% of the isolated colonies), *Epicoccum nigrum* (about 10%), *Pestalotia rosae*, *Phoma leveillei* and *Diplocarpon rosae* (5-7%).

The influents, numbering between 1-5% of the total community, were: *Arthrinium sphaerospermum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Chaetomium funicola*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Ilyonectria radicola*, *Mortierella hyalina*, *M. parvispora*, *Penicillium brevicompactum*, *P. herquei*, *P. expansum*, *P. glabrum*, *Pestalotiopsis sydowiana*, *Phialophora cyclaminis*, *Pleurostomophora richardsiae* and *Sordaria fimicola*.

In the accessory group, numbering below 1% of the isolated colonies, were species from the genera: *Acremonium*, *Coelophoma*, *Davidiella*, *Gliomastix*, *Humicola*, *Isaria*, *Mortierella*, *Mucor*, *Nectria*, *Oidiodendron*, *Paraphoma*, *Phoma*, *Rhizopus*, *Sphaceloma*, *Stemphylium*, *Thanathephorus*, *Trichothecium*, *Umbelopsis* and others. Numerous colonies of *D. rosae* were isolated from tissue with symptoms of necrosis causing black spot in roses and several *Sphaceloma rosarum* colonies, causing anthracnose in rose. Only *A. alternata*, *C. cladosporioides*, *Ph. leveillei* and *D. rosae* were consistently found during the growing period in all three years. *P. rosae* and *Ch. funicola* were consistently found from August to October. Necrotroph *E. nigrum* colonised leaves in 2011 and 2013, but *S. fimicola* in 2012 and 2013.

The *Cladosporium* species *C. cladosporioides*, *C. herbarum*, *C. sphaerospermum* and *C. macrocarpum* (syn. *D. macrocarpa*) were found in large numerous on rose leaves. Fungi from the genus *Mortierella* and *Umbelopsis* frequently inhabited the leaves of roses in wet October 2011 and 2013. There were 58 colonies of *P. rosae* isolated in the three years of research. This monophage founded on the rose in the vicinity of Ghent and described in 1859 has not been recorded in Polish literature. *Acremonium rutillum*, *Aspergillus chevalieri*, *Boeremia exigua*, *Humicola fuscoatra*, *Nectria inventa*, *Paraphoma chrysanthemicola*, *Phialophora cinerescens*, *Stemphylium vesicarium*, *Trichoderma viride*, *Trichothecium roseum* and others were occasionally found in the phyllosphere of roses. These fungi isolated as single colonies are species randomly colonising the leaves of roses.

In October 2011 the abundance of fungi colonies was fivefold higher than in June; in 2012 it was twice higher and in 2013 it was at a similar level. This reflects the increase in plant infection towards the end of the growing season resulting from the dieback of leaves and shrub defoliation.

In summary:

- *Micromycetes* communities inhabiting the leaves of climbing roses *Rosa* L. growing in the Jagiellonian University Botanical Garden, had different species composition and number of colonies in three successive years of research.
- Dieback of climbing rose leaves resulted in numerous *Micromycetes*. The dominant role was played by the pathogen *D. rosae* and necrotrophs *A. alternata*, *E. nigrum* and *S. fimicola*.
- *Micromycetes* inhabiting leaves of climbing roses considerably decreased the decorative value of the plants.

Problemy badań ekologicznych mikroskopijnych grzybów pasożytniczych

Monika Kozłowska*, Wiesław Mułenko**

Zakład Botaniki i Mykologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin; *monika@poczta.umcs.lublin.pl

**wieslaw.mulenko@poczta.umcs.lublin.pl

Najstarsze informacje dotyczące występowania mikroskopijnych grzybów pasożytniczych w Polsce pochodzą z 1835 roku, jednak dopiero w latach 80. XIX wieku zaczęły one wzbudzać większe zainteresowanie. Publikacje zawierały najczęściej proste wykazy gatunków z uwzględnieniem stanowisk i dat zbioru, z czasem uzupełniano je dodatkowymi informacjami, np. o typie siedliska.

Pierwsze opracowania ekologiczne dotyczące tej grupy grzybów ukazały się dopiero na przełomie lat 60. i 70. XX wieku. Zawierały wyniki badań prowadzonych kolejno w Puszczy Kampinoskiej, w Białowieskim i w Ojcowskim Parku Narodowym oraz w zbiorowiskach stepowych Wyżyny Lubelskiej. Były to badania prowadzone głównie metodą marszrutową, ukierunkowane na określenie bogactwa i różnorodności gatunkowej grzybów. Autorzy szukali również zależności pomiędzy występowaniem grzybów pasożytniczych a zróżnicowaniem fitosocjologicznym badanego obszaru. Podjęli też pierwsze próby określenia częstotliwości występowania grzybów oraz dynamiki ich sezonowego rozwoju. Z czasem zaczęto modyfikować metody badawcze, stosować stałe powierzchnie obserwacyjne, określać frekwencję występowania grzybów oraz stopień porażenia żywicieli.

Przełomem w historii badań ekologicznych był tzw. projekt „Crypto”, realizowany w Białowieskim P.N. Były to badania prowadzone wyłącznie na stałych powierzchniach, co umożliwiło szczegółowe przeanalizowanie zależności przestrzennych między pasożytem a żywicielem. Od tego momentu badania prowadzone są głównie metodą stałych powierzchni, a zgromadzone dane poddawane są wszechstronnej analizie.

Problems in ecological investigations of microscopic parasitic fungi

Monika Kozłowska*, Wiesław Mułenko**

Department of Botany and Mycology, Maria Curie-Skłodowska University
19 Akademicka St., PL-20-033 Lublin; *monika@poczta.umcs.lublin.pl

**wieslaw.mulenko@poczta.umcs.lublin.pl

The earliest information on the occurrence of microscopic parasitic fungi in Poland originates from 1835, but they began to arouse more interest only in the 80s of the 19th century. Publications usually included simple lists of species taking into account the localities and dates of collection, sometimes supplemented with additional information concerning e.g. the type of the habitat.

The first ecological publications of this fungal group appeared in the late 60s and early 70s of the 20th century. They presented the results of research conducted in the Kampinoska Forest, Białowieża and Ojców National Parks, and in steppe communities in the Lublin Upland. The investigations carried out with the route method were focused on determination of the richness and diversity of fungal species. Authors aimed at recognition of relationships between the occurrence of parasitic fungi and the phytosociological diversity of the study area. They also made their first attempts at determination of the frequency of occurrence of fungi and seasonal dynamics of their development. Subsequently, they introduced modifications to research methods, used permanent observation plots, and determined the frequency of fungal occurrence and the degree of host infections.

The turning point in the history of ecological research was the so-called “Crypto” project implemented in the Białowieża National Park. It involved investigations of permanent plots exclusively, which facilitated detailed analysis of spatial relationships between the parasite and the host. Since then, research has been primarily carried out on permanent plots and collected data are subjected to a comprehensive analysis.

Zanieczyszczenie owocników i bionagromadzanie rtęci przez grzyba *Macrocybe gigantea*

Grażyna Krasińska¹, Anna Wiejak¹, Ji Zhang², Yuanzhong Wang², Jerzy Falandysz¹

¹Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

²Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences
Kunming, China

Grzyb *Macrocybe gigantea* (Masse) Pegler & Loge jest gatunkiem popularnym w strefie tropikalnej w Chinach, Indiach, Wietnamie, itd. W Chinach jest też uprawiany. Cechą szczególną tego gatunku jest duża masa ciała owocników wyrastających razem (w gronie) z tej samej grzybni w jednym miejscu (nawet do 45 kg). W piśmiennictwie naukowym brak jest informacji o składzie mineralnym *M. gigantea*.

Badania miały na celu poznanie zdolności do bionagromadzania, stopnia zanieczyszczenia rtęcią (Hg) owocników *M. gigantea* pozyskanych z lasów oraz uprawy na południu Yunnan w Chinach (lata 2011-2013). Wykazano, że

grzyb *M. gigantea* względnie wydajnie gromadzi Hg w owocnikach (wartości współczynnika bionagromadzania dla kapeluszy mieściły się w zakresie od 4,8 do 24 a trzonów od 3,6 do 18). Owocniki zebrane w lasach wykazywały większe zanieczyszczenie rtęcią niż pozyskane z uprawy, tj. w kapeluszach zawierały odpowiednio od 0,54 do 1,96 i 0,37 mg/kg masy suchej, a w trzonach na ogół było mniej, tj. od 0,36 do 1,7 i 0,25 mg/kg masy suchej. Podłoże glebowe *M. gigantea* w warstwie wierzchniej (0-10 cm) zawierało względnie dużo rtęci, tj. od 0,081 do 0,24 mg/kg masy suchej. Można przypuszczać, że dla grzybni tego saprofitycznego grzyba na terenie Yunnanie gleba jest głównym źródłem rtęci zawartej w owocnikach. Ilości rtęci wykazane w kapeluszach i trzonach owocników *M. gigantea* z Yunnanu jakkolwiek znaczne jak na produkt spożywczy nie odbiegają od wartości notowanych u niektórych innych gatunków grzybów w innych rejonach świata.

Badania w części wsparte finansowo przez National Natural Science Foundation of China (No. 31260496, 31160409).

Mercury contamination and bioconcentration in the fruit bodies of mushroom *Macrocybe gigantea*

Grażyna Krasieńska¹, Anna Wiejak¹, Ji Zhang², Yuanzhong Wang², Jerzy Falandysz¹

¹Faculty of Chemistry, University of Gdańsk
63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

²Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences
Kunming, China

Macrocybe gigantea (Massee) Pegler & Loge is edible wild-grown and cultivated nonmycorrhizal mushroom (Pegler et al. 1998) from the subtropical regions of the world. This mushroom has biomass of up to 45 kg fresh mass of basidiocarp with many fruit bodies in a cluster. Its habitat is ground in broad-leaved forest (Pegler et al. 1998).

This paper reports the results of the investigation of Hg contamination (and bioconcentration) of caps and stalks of *M. gigantea* for which data is lacking. Mushrooms and soil samples were collected in the Pu'er county in Yunnan, southwestern China. Fresh mushrooms (separately caps and stalks) were sliced using a plastic knife, dried at 85 °C to constant weight and further pulverized using ceramic mortar and kept in brand new sealed polyethylene bags and packed in paper envelopes in dry and clean condition in a laboratory room.

Total Hg content of the materials was determined by cold-vapour atomic absorption spectroscopy after direct sample matrix combustion (Mercury analyzer type MA-2, Nippon Instruments Corporation, Takatsuki, Japan) and the analyses were subjected to analytical control and quality assurance (AC/QA) checks as described earlier (Jarzyńska and Falandysz, 2011).

Mushroom *M. gigantea* showed good potential to efficiently bioconcentrate Hg, because the values of bioconcentration factor (BCF) calculated for this element were well above unity, i.e. for caps BCF ranged from 4.8 to 24 and for stalks from 3.6 to 18. There is no earlier data available on bioconcentration

potential of Hg by tropical mushrooms. The fruit bodies of wild-grown specimens of *M. gigantea* showed more Hg in caps (0.48 - 1.78 mg/kg dry matter) than in stalks (0.36 - 1.7 mg/kg dry matter), and for one composite sample of whole fruit bodies from mushroom farm was 0.3 mg Hg/kg dry matter).

Mercury content of top layer of forest soil substrata beneath fruit bodies was 0.081 to 0.24 mg/kg dry matter, which values are substantially greater when compared, *exemplum gratia*, to forest soils of Poland, for which background content is < 0.050 mg/kg dry matter. Hence, top soil in Yunnan can be a vital source of Hg to mushrooms that emerged there, while further study should explain if litter and air-born Hg deposits could be important factors at least to saprophitic species. Risk analysis showed that intake of Hg because of regular consumption of fruit bodies of *M. gigantea* collected from the wild in Yunnan can pose health risks. However, data is not available on the selenium (Se) contents of the fruit bodies considering Se is an element with some protective potential against the biological impacts of Hg in food.

This study in part was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31260496, 31160409).

Banerjee A., Biswas G., Rai M., Saha G.K. & Acharya K. 2007. Antioxidant and nitric oxide synthase activation properties of *Macrocybe gigantea* (Massee) Pegler and Lodge. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 2: 40-44.

Jarzyńska G. & Falandysz J. 2011. The determination of mercury in mushrooms by CV-AAS and ICP-AES techniques. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 46: 569-573.

Rtęć w maślaku pstrym i maślaku ziarnistym oraz w ich podłożu glebowym

Patrycja Krogul¹, Innocent Chidi Nnorom², Jerzy Falandysz¹

¹Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

²Abia State University, Uturu, Abia State, Nigeria

Badania miały na celu poznanie stanu zanieczyszczenia rtęcią maślaka pstrego i ziarnistego oraz ich podłoża glebowego. Materiał do badań pozyskano z różnych miejsc na obszarze północnej części kraju w pierwszej dekadzie XXI wieku. Określono zawartość rtęci ogółem w kapeluszach i trzonach owocników obu gatunków maślaków oraz podłożu glebowym (warstwa 0-10 cm) grzyba. Wyliczono wartości współczynnika bionagromadzania rtęci w owocnikach. Oceniono możliwe narażenie na rtęć zawartą w owocnikach maślaków przez osoby mogące spożywać te grzyby.

Materiał do badań starannie selekcionowano. Wybierano tylko okazy zdrowe owocników (niezarobaczone) i o podobnej wielkości. Glebę powietrznie suchą przesiewano przez plastikowe sitko o średnicy oczek 2 mm. Zawartość rtęci oznaczono, stosując sprawdzoną metodykę analityczną z wykorzystaniem techniki zimnych par bezpłomieniowej spektroskopii

absorpcyjnej (CV-AAS) – po spopieleniu próbki kapeluszy i trzonów owocników w analizatorze rtęci typ MA-2 (Jarzyńska i Falandysz 2011).

Gleba stanowiąca podłoże dla maślaków zawierała w warstwie 0-10 cm małe ilości rtęci – rozstęp wartości mediany dla poszczególnych miejsc był od 0,014 do 0,026 mg/kg masy suchej. Wartości mediany współczynnika bioakumulacji rtęci wyliczone dla kapeluszy maślaków nie przekraczały 14, co wskazuje na umiarkowaną zdolność gatunku do wchłaniania i kumulowania tego metalu w owocnikach. Wartości mediany zawartości rtęci w kapeluszach obu maślaków nie przekroczyły wartości 0,25 mg/kg masy suchej a w trzonach było średnio od 2 do 4 razy mniej tego metalu. Uzyskane wyniki wskazują, że jak na grzyby leśne owocniki obu gatunków maślaków są w niedużym stopniu zanieczyszczone toksyczną rtęcią.

Mercury in Variegated Bolete and Granulated Bolete, and in the soil substratum beneath the fruit bodies

Patrycja Krogul¹, Innocent Chidi Nnorom², Jerzy Falandysz¹

¹Faculty of Chemistry, University of Gdańsk
63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

²Abia State University, Uturu, Abia State, Nigeria

Environmental contamination with mercury (Hg) released because of anthropogenic emissions is a global problem (UNEP 2013). It is known that mushrooms (*Macromycetes*) of different feeding requirements are organisms that are able to efficiently absorb Hg from the substratum and sequester it in edible fruit bodies at elevated concentration (Melgar et al. 2009).

This study aimed to gain insight into the bioconcentration potential and degree of Hg (total Hg) contamination of fruit bodies of two species of mushrooms of the genus *Suillus*: Variegated Bolete – *Suillus variegatus* and Granulated Bolete – *S. granulatus* that emerged at several spatially and distantly distributed places in Poland. Mushrooms (fruit bodies) were carefully selected to collect matured specimens that are not infected by insects. The samples of soils beneath the fruit bodies were collected from the depth of 0-10 cm. Both mushrooms and soil samples were subsequently dried before being subjected to Hg determination (Falandysz and Brzostowski 2007).

Mercury contents of the materials were determined by cold-vapour atomic absorption spectroscopy after direct sample matrix combustion using the mercury analyzer of type MA-2 (Nippon Instruments Corporation, Takatsuki, Japan). The analytical procedure used was subjected to strict daily analytical control and quality assurance (AC/QA) checks as described in report by Jarzyńska and Falandysz (2011).

The soil substratum beneath the fruit bodies of Variegated Bolete and Granulated Bolete in this study showed low degree of contamination with Hg – the range of median values was from 0.014 to 0.026 mg/kg dry matter. The median values of bioconcentration factor calculated for caps of both species did not exceeded 14, which indicated a moderate potential to absorb and bioconcentrate Hg in fruit bodies. The median values of Hg content in caps for

both species of *Suillus* mushrooms did not exceeded 0.25 mg/kg dry matter and in stalks were on the average from 2 to 4 times lower. The results obtained in this study showed that the fruit bodies of both species when compared to several other species of forest mushrooms are only moderately contaminated with Hg.

Falandysz J. & Brzostowski A. 2007. Mercury and its bioconcentration factors in Poison Pax (*Paxillus involutus*) from various sites in Poland. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 42: 1095-1100.

Jarzyńska G. & Falandysz J. 2011. The determination of mercury in mushrooms by CV-AAS and ICP-AES techniques. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 46: 569-573.

Melgar MJ., Alonso J. & García M.Á. 2009. Mercury in edible mushrooms and soil. Bioconcentration factors and toxicological risk. Science of the Total Environment, 407: 5328-5334.

UNEP. 2013. Mercury – time to act. United Nations Environmental Programme, 2013. Available from: http://www.unep.org/PDF/PressReleases/Mercury_TimeToAct.pdf.

Modyfikacje genetyczne prowadzące do poprawy walorów użytkowych grzybów

Joanna S. Kruszewska

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN

ul. Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa; jsk@ibb.waw.pl

Grzyby strzępkowe są szeroko stosowane w rolnictwie do biologicznej kontroli zakażeń grzybami i w przemyśle do produkcji białek własnych i obcych. Enzymy produkowane przez grzyby są używane w produkcji detergentów, przemyśle skórzanym, papierniczym, tekstylnym, spożywczym i w produkcji pasz dla zwierząt.

Wydajność syntezy i wydzielania białek przez grzyby sięga 100 g/l dla białek własnych i 40 g/l dla białek heterologicznych. Podniesienie wydajności produkcji białek można osiągnąć poprzez ekspresję genów spod silnych promotorów, optymalizując kodony obcych genów i integrując gen do genomu w miejsce preferowane do ekspresji. Oprócz wydajności ważne jest otrzymanie białek w formie funkcjonalnej. Często istotne okazują się odpowiednie potranslacyjne modyfikacje białek w tym glikozylacja. Białka niewłaściwie zmodyfikowane mogą tracić aktywność biologiczną i często nie są wydzielane, nagromadzając się w komórce gospodarza. Stres wywołany nagromadzeniem niewłaściwie zmodyfikowanych białek w endoplazmatycznym retikulum powoduje uruchomienie specjalnych mechanizmów obronnych i w efekcie spadek wydajności produkcji białka. Stres ER może wystąpić przy nadprodukcji białek niezależnie czy są to białka własne czy obce.

Białka enzymatyczne np. *Trichoderma* są wysoko glikozylowane, dlatego uaktywnienie procesów glikozylacji może złagodzić stres spowodowany

niewydolnością glikozylacji zwiększonej ilości białek. W naszej pracowni uaktywniliśmy procesy glikozylacji u *Trichoderma*, co zaowocowało zwiększonym wydzielaniem hydrolaz i/lub ich wyższą aktywnością. Tę metodę wykorzystaliśmy do tworzenia nowych szczepów biokontrolnych u których aktywność hydrolaz jest kluczowa.

Genetic modifications leading to improvement of usability of fungi

Joanna S. Kruszewska

Institute of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences
5a Pawińskiego St., PL-02-106 Warszawa; jsk@ibb.waw.pl

Filamentous fungi are widely used for production of industrial enzymes. The worldwide industrial enzyme market was valued at approximately 1.5 billion \$. The enzymes are used in the detergent, starch, textile, leather, pulp, paper and personal care industries. The second large segment is food enzymes used in dairy, brewing, wine, juice, fats and oil, and baking industry and finally about 10% of enzyme market belongs to the animal feeds industry (Cherry and Fidantsef, 2003).

Efficiency of protein synthesis and secretion by fungi currently reached above 100g/l and 40g/l for homologous and heterologous proteins, respectively (Cherry and Fidantsef, 2003). To improve the yield of especially foreign protein production techniques such as optimization of the codon usage or fusion to homologous highly secreted proteins are used. Apart from the yield, it is equally important to obtain the proteins in an active, functional form. For production of pharmaceutically relevant proteins for therapeutic use a proper post-translational modification becomes especially important. The most crucial is glycosylation as it may affect the functionality and immunogenicity of a given protein.

To modify fungi towards the production of foreign proteins or towards increased production of homologous proteins several strategies are used which can be broadly characterized as genetic modification and modification of cultivation conditions. The most applied strategies are to integrate multiple copies of the gene coding for product of interest, expression under a strong homologous promoter and integration of the incoming genetic material into the gene locus often encoding a major secreted protein such as cellobiohydrolase I in *Trichoderma* and glucoamylase A in *Aspergillus niger*. Recently, it was noted that high expression of genes and protein productivity resulted in cellular stress and switched on cell defense mechanisms which limited the yield of protein production (Gasser et al. 2008).

Current research is carried out into cellular mechanisms for internal protein quality control, secretion stress, functional genomics relating to protein expression and secretion, post-translational protein modification, application of alternative expression promoters, identification of specific transcription factors and linking the fungal physiology to productivity (Nevalainen and Peterson, 2014).

Trichoderma strains are also widely used in agriculture to protect plants against fungal pathogens. Their antimicrobial activity is connected with secretion of cell-wall-degrading enzymes but also with production of antifungal substances including antibiotics, volatile metabolites, terpenes, peptabols and piperazine derivatives. Genetically modified strains overproducing the antifungal components could be more effective against plant fungal pathogens.

Our laboratory elaborated an original method to elevate activity of hydrolases in *Trichoderma atroviride* resulted in more effective antifungal and biocontrol properties of the modified strains. We obtained this effect by strengthening the efficiency of protein modification in ER (Zembek et al. 2011; Kruszevska et al. patent applications P-401450; P.402603; US 14/067,597; MX/E/2013/079664).

This procedure is part of a modern approach giving the chance to overcome ER stress resulting from accumulation of misfolded proteins. Since hydrolytic enzymes from *Trichoderma* are heavily glycosylated their processing in the ER when they are overproduced could create a bottleneck. Intensifying glycosylation activity we partially overcome this problem. Our findings were used to obtain strains of *Trichoderma* overproducing hydrolases or secreting enzymes with much higher activity (Perlińska-Lenart et al. 2006, Zembek et al. 2011 Kruszevska et al. patent applications P-401450; P.402603; US 14/067,597; MX/E/2013/ 079664; patent P-351631-2008).

Cherry J.R., Fidantsef A.L. (2003) Current Opinion in Biotechnology 14:438-443.

Gasser B., Saloheimo M., Rinas U., Dragosits M., Rodriguez-Carmona E., Baumann K., Giuliani M., Parrilli E., Brunduardi P., Lang, Ch., Porro D., Ferrer P., Tutino M.L., Mattanovich D., Villaverde A. (2008) Microbial Cell Factories 7: 1-18.

Nevalainen H., Peterson R. (2014) Frontiers in Microbiology 5: Article 75.

Zembek P., Perlińska-Lenart U., Brunner K., Reithner B., Palamarczyk G., Mach R.L., Kruszevska J.S. (2011) Mol. Plant-Microb. Interaction 24: 1522-1529.

patent Nr P-351631 pt. „Sposób podnoszenia aktywności enzymów celulolitycznych u *Trichoderma reesei*.” Kruszevska J.S., Zakrzewska A., Palamarczyk G. 2008.

Epidemiologia grzybic paznokci na podstawie danych Zakładu Mykologii UJCM (2008-2013)

Paweł Krzyściak¹, Magdalena Skóra¹, Małgorzata Bulanda²

¹Zakład Mykologii, Katedra Mikrobiologii UJCM, ul. Czysa 18, 31-121 Kraków, tel.: 12 633 08 77, zaklad.mykologii@cm-uj.krakow.pl

²Zakład Epidemiologii Zakażeń, Katedra Mikrobiologii UJCM
ul. Czysa 18, 31-121 Kraków

Praca przedstawia ocenę częstości występowania poszczególnych gatunków grzybów w zakażeniach paznokci. Wyniki oparte są na analizie blisko 4000 próbek pobranych i przebadanych w latach 2008-2013 w Zakładzie Mykologii

UJCM.

Po pobraniu paznokci wykonywano preparaty rozjaśnione 20% roztworem KOH (w DMSO + glicerol) oraz prowadzono hodowlę na podłożach Sabourauda z glukozą i antybiotykiem oraz na podłożu Sabourauda z glukozą, antybiotykiem i dodatkiem cykloheksymidu. Inkubacja prowadzona była w 27°C, odczytu dokonywano co tydzień przez okres 3 tygodni. Identyfikacji gatunkowej grzybów dokonywano na podstawie cech makroskopowych, mikroskopowych (z wykorzystaniem techniki mikrohodowli na szkiełkach podstawowych) oraz w niektórych przypadkach z wykorzystaniem m.in. testów biochemicznych, testu perforacji włosa. Większość badanych materiałów (ok. 2500) pochodziło od kobiet, natomiast ok. 1500 od mężczyzn. Dominowały próbki paznokci stóp – ok. 3260 materiałów, opilki paznokci rąk stanowiły ok. 715 próbek.

Wśród wyizolowanych dermatofitów (n=582) dominował *Trichophyton rubrum* (403-69,2%), następnym pod względem częstości izolacji był kompleks gatunków *T. mentagrophytes* (*T. interdigitale*) – 164 izolatów (28,2%), *T. tonsurans* izolowany był z 12 próbek (2,1%). Pojedyncze izolaty dotyczyły *Epidermophyton floccosum*, *T. shoenleinii* i *Microsporum fulvum* (przy czym ostatni nie został potwierdzony jako czynnik etiologiczny – brak izolacji w powtórnej próbce).

W pracy dokonano również oceny występowania drożdżyc i pleśni paznokci. Uzyskane wyniki występowania poszczególnych gatunków zestawione zostały z wynikami podobnych analiz przeprowadzanymi w przeszłości w Zakładzie Mykologii oraz z danymi dostępnymi w literaturze.

The epidemiology of onychomycoses based on data from the Department of Mycology JU-MC (2008-2013)

Paweł Krzyściak¹, Magdalena Skóra¹, Małgorzata Bulanda²

¹Department of Mycology, Chair of Microbiology, Jagiellonian University Medical College, 18 Czysta St., PL-31-121 Kraków; phone: 12 6330877
zaklad.mykologii@cm-uj.krakow.pl

²Department of Epidemiology of Infection, Chair of Microbiology Jagiellonian University Medical College, 18 Czysta St., PL-31-121 Kraków

This study evaluated the prevalence of various species of fungi in nail infections. Results are based on an analysis of nearly 4000 samples collected and tested in the Department of Mycology Jagiellonian University Medical College in Krakow in 2008-2013.

From obtained nail scrapings slide mounts with 20% KOH (with DMSO and glicerol) were made and samples were cultured on two media: Sabouraud with glucose and antibiotic and Sabourauda with glucose, antibiotic and cyclohexamide. Incubation was conducted at 27°C, checked weekly for three weeks incubation period. Fungal species identification was made based on macroscopic features, microscopic (with slide culture) techniques and in some cases with the use of biochemical tests and hair perforation test. The majority of investigated samples (approx. 2500) were obtained from women, and approx. 1500 from the men. Toe nails samples were dominant – about 3260 samples and finger nail scrapings accounted about 715 samples.

Among the isolated dermatophytes (n=582) the most common was

Trichophyton rubrum (403, 69,2%) following the species complex of *T. mentagrophytes* (*T. interdigitale*) – 164 isolates (28,2%); third species, *T. tonsurans*, was isolated from 12 samples (2,1%). *Epidermophyton floccosum*, *T. schoenleinii* and *Microsporum fulvum* were isolated once (the latter species hasn't been confirmed as a causative agent because it not isolated in the re-sample).

The study were also evaluated the occurrence of yeast and mould nail infection. Obtained data was discussed with the results of similar studies conducted in the past in the Department of Mycology and the actual epidemiological data available in the literature.

Bioróżnorodność i ochrona grzybów.

Rola makrogrzybów w monitoringu i ochronie przyrody i środowiska

Anna Kujawa

Instytut Środowiska Rolniczego i Leśnego PAN, Stacja Badawcza w Turwi
Turew, ul. Szkolna 4, 64-000 Kościan; annakuja@poczta.onet.pl

Rok 1992 można przyjąć za początek nowego światowego nurtu w myśleniu o przyszłości Ziemi. W roku tym podpisano w Rio de Janeiro Konwencję o Bioróżnorodności ratyfikowaną następnie przez prawie 200 krajów. W Europie idee ochrony różnorodności biologicznej formułowane były już wcześniej. W roku 1979 w Bernie została podpisana Konwencja Berneńska o ponadnarodowej ochronie gatunków chronionych i zagrożonych i ich naturalnych siedlisk. Polska ratyfikowała ją dopiero w roku 1995. Te i podobne dokumenty (a przede wszystkim postępujące ubożenie zasobów przyrodniczych) stawiają nowe wyzwania przed współczesnymi społeczeństwami.

Jednak dopiero początek XXI wieku można uznać za rewolucyjny w patrzeniu na potrzebę ochrony różnorodności gatunkowej grzybów. Dopiero na początku XXI wieku powstały propozycje wyłonienia puli gatunków zgłoszonych do załącznika Konwencji Berneńskiej, powstała też globalna inicjatywa utworzenia najpierw europejskiej, a następnie światowej czerwonej listy grzybów zagrożonych.

Przy ochronie różnorodności biologicznej, ważna jest znajomość jej bogactwa, wrażliwości poszczególnych gatunków na zmiany w środowisku i monitorowanie efektów działań ochroniarskich. Podstawowym problemem jest określenie liczby gatunków, jakie występują na danym terytorium. W Polsce w latach 2003-2008 wydane zostały listy krytyczne grzybów mikroskopijnych oraz wielkoowocnikowych grzybów workowych i podstawkowych. Według nich w Polsce znanych jest co najmniej 10 tysięcy gatunków grzybów. Nie są to oczywiście pełne dane. Tak, jak znana jest jedynie przybliżona liczba gatunków grzybów, tak samo niewiele wiadomo o rozprzestrzenieniu i wymaganiach wielu gatunków. Ten niski stopień wiedzy spowodowany jest zarówno specyficzną biologią grzybów, jak i znikomą liczbą specjalistów (w porównaniu np. z zoologami czy botanikami). Od dekady zaznacza się w Polsce wzrastające znaczenie aktywności mykologicznego ruchu amatorskiego

i współpracy amatorów z profesjonalnymi mykologami. Amatorzy są dostarczycielami danych do powstałego w 2005 roku rejestru stanowisk gatunków rzadkich i chronionych.

W roku 1996 ustalono pierwsze założenia powszechnego monitoringu grzybów w Polsce, do którego wytypowano 20 gatunków. Jednak z różnych powodów, monitoring ten nie jest realizowany. W skali lokalnej konieczność monitoringu zalecana jest w wielu planach ochrony obiektów chronionych (parków narodowych i krajobrazowych oraz rezerwatów przyrody). Jednak tylko w nielicznych obiektach monitoring ten jest realizowany (np. w Pienińskim PN).

W przygotowaniu jest także nowa lista gatunków grzybów chronionych, w której proponuje się objęcie ochroną ponad 200 gatunków grzybów oraz zrezygnowanie z ochrony najmniej zagrożonych, chronionych aktualnie gatunków.

Istnieje pilna potrzeba zintensyfikowania prac dotyczących aktualizacji czerwonej listy grzybów Polski, współpracy przy tworzeniu światowej czerwonej listy, reaktywacji monitoringu stanowisk grzybów (w skali ogólnopolskiej i lokalnej) oraz dyskusji i opracowania zasad ochrony gatunkowej grzybów w Polsce.

Biodiversity and conservation of fungi.

The role of macrofungi in monitoring and protection of nature and environment

Anna Kujawa

Institute for Agricultural and Forest Environment, Field Station in Turew
Turew, 4 Szkolna St., PL-64-000 Kościan; annakuja@poczta.onet.pl

The year 1992 may be considered as the beginning of the new worldwide course in thinking about the future of the World. In 1992 the Convention on Biological Diversity was signed in Rio de Janeiro and ratified by almost 200 countries. In Europe, the ideas of biodiversity conservation were formulated even earlier. In 1979, The Bern Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats, was signed in Bern, and ratified by Poland only in 1995. Those and other related documents, conventions etc. (but first of all ongoing impoverishment of natural resources) pose new challenges for contemporary societies.

However, only the beginning of XXI century may be regarded as revolutionary in the way of looking at the need for conservation of fungal diversity. It was only in the beginning of XXI century, that some proposals appeared, concerning definition of the pool of species applicable for inclusion in the Bern Convention Annex, and also then the global initiative of establishing European, and finally global red list of threatened fungi was formed.

For effective biodiversity conservation there is a need for a good

knowledge on species richness and vulnerability of individual species to environmental changes, as well as a need for monitoring of the results of all undertaken conservation measures. The basic problem is an assessment of species number in a given area. In Poland, in 2003-2008, critical checklists of microfungi, larger ascomycetes and basidiomycetes were published. According to the checklists, at least 10.000 of fungal species were recorded in Poland. That information is surely highly incomplete, as well is the knowledge on the distribution and habitat demands of many species. This poor knowledge is caused by both, specific biology of fungi and minimal, highly insufficient number of professional fungal taxonomists (when compared to zoology or botany). For the last decade, the importance of amateur mycological movement in Poland and cooperation with professional mycologists have increased noticeably. Amateurs provide the data to the register of localities of rare and protected species that has been established in 2005.

In 1996 the first assumptions for nationwide monitoring of 20 selected fungal species were formulated, but it has not been launched for various reasons. In a local scale, a monitoring of fungi is recommended in many conservation plans of protected areas (national and landscape parks and nature reserves). However, such monitoring programs are being realized only in few places (e.g. in Pieniński National Park).

There is also a new list of protected fungal species being prepared and discussed, in which it is proposed to protect more than 200 species and to exclude from that list some currently protected species that are considered now as unthreatened.

There is an urgent need for intensification of work aimed at updating Polish red list of fungi, for cooperation at defining global red list of fungi, for reactivation of monitoring program for fungal species localities (at a national and regional scale) and for discussion on, and resulting elaboration of, guidelines for protection of fungal species in Poland.

Grzyby zagrożeniem dla zdrowia i życia ludzi

Piotr Kurnatowski

Katedra Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Plac Hallera 1, 90-647 Łódź; piotr.kurnatowski@umed.lodz.pl

W ostatnich latach prewalencja zarażeń grzybami rośnie wraz ze wzrostem liczby czynników predysponujących, w tym jatrogennych, sprzyjających ich rozwojowi. Czynniki takimi mogą być niedobory odpornościowe zarówno wrodzone, jak i nabyte, związane z leczeniem chorych (antybiotyko- i steroidoterapia, radio- i chemioterapia, leki immuno-supresyjne), przerwanie ciągłości tkanek (zabiegi operacyjne, rany w przebiegu wypadków, zwłaszcza komunikacyjnych), wkłucia dożylnie (wenflony), klimatyzatory i inne. Spośród wielu rodzajów grzybów chorobotwórczych dla człowieka w naszej strefie

klimatycznej występują przede wszystkim różne gatunki *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*. Należy podkreślić, że również inne – grzyby endemiczne, mogą być importowane do Europy i Polski. Z danych piśmiennictwa wynika, że prewalencja *Candida albicans* zmniejszyła się z 88,5% do 30% (20% w 2009 roku), natomiast wzrosła *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* i *C. parapsilosis* z 2-10% do 20-26%; gatunki te są odporne na większość stosowanych w grzybicach leków. Zagrożeniem dla zdrowia i życia są przede wszystkim przypadki, w których dochodzi do fungemii i uogólnienia inwazji, których przebieg może być gwałtowny, kończący się w ciągu kilku dni zgonem; śmiertelność w tych przypadkach dotyczy średnio ponad 1/3 pacjentów, niekiedy osiągając blisko 100%.

Fungi as threat to human health and life

Piotr Kurnatowski

Department of Biology and Medical Parasitology, Medical University of Lodz
1 Hallera Sq., PL-90-647 Łódź; piotr.kurnatowski@umed.lodz.pl

In recent years, the prevalence of fungal infections has been increasing with the number of predisposing factors, including iatrogenic agents, conducive to their development. Such agents can be acquired immunodeficiencies, or factors related to the treatment of patients (antibiotic and steroid therapy, radiation therapy and chemotherapy, immunosuppressive drugs), rupture of tissues (surgery, wounds sustained in accidents), intravenous injection site (cannulas), air conditioners and others. In our climate such species like *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus* are the most pathogenic once. It should be emphasized that fungi endemic elsewhere, can be imported to Europe and Poland. The literature data indicate that the prevalence of *Candida albicans* has been recently reduced from 88.5% to 30% (20% in the 2009), and *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* and *C. parapsilosis* has increased from 2-10% to 20-26%; these species are resistant to most drugs used in the treatment of mycosis. The greatest risk for health and life arises from developed a fungemia and disseminated invasion. In such cases the course may be violent, resulting in death within a few days; mortality may affect over one third of patients, being sometimes as high as 100%.

Grzyby w astrobiologii

Justyna Kwiatkowska

Katedra Botaniki i Ochrony Przyrody, Uniwersytet Szczeciński
ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin; jmlynarczykowska@gmail.com

Astrobiologia to dziedzina nauki szukająca odpowiedzi na pytania o pochodzenie, ewolucję i przyszłość życia na Ziemi oraz poza nią. Za pierwsze próby badań grzybów w przestrzeni kosmicznej uznać można loty balonowe (około 1935 roku) z zarodnikami grzybów (Kern 1993). W dobie lotów

kosmicznych, wpływ stanu nieważkości na różne stadia rozwoju owocników grzybów makroskopowych był badany m.in. na przykładzie *Coprinus cinereus* i *Flammulina velutipes* (Moore 1996). Testy prób powietrza i powierzchni pobrane z Międzynarodowej Stacji Kosmicznej czy orbitalnej stacji Mir wykazały obecność grzybów mikroskopijnych m.in. z rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Saccharomyces* (Dadachova, Casadevall 2008). W 2011 roku na Międzynarodową Stację Kosmiczną wysłano *Ulocladium chartarum*, by zbadać jego możliwości rozwoju i przeżycia w warunkach mikrogravitacji i oddziaływania promieniowania kosmicznego (Gomoiu et al. 2013). Równolegle z badaniami w przestrzeni kosmicznej przeprowadzano eksperymenty na Ziemi, gdzie symulowano warunki kosmiczne i marsjańskie w odniesieniu do gatunków grzybów, np. *Aspergillus niger* i *Candida albicans* (Yamazaki et al. 2012). Nakreślona tematyka badawcza żywo pozostaje w kręgu zainteresowań astrobiologów, gdyż obserwacje nad wpływem warunków kosmicznych na żywe organizmy, traktowane są jako jedno z głównych ogniw w poszukiwaniu życia w Kosmosie.

Fungi in astrobiology

Justyna Kwiatkowska

Department of Botany and Nature Conservation, University of Szczecin
3c Felczaka St., PL-71-412 Szczecin; jmlynarczykowska@gmail.com

Astrobiology is a branch of science that seeks answers to the questions on the origin, evolution and future of life on the Earth and outside it. Balloon flights with fungal spores (about 1935) can be considered the first attempts of investigating fungi in outer space (Kern 1993). In the era of space flights, the effect of weightlessness on different stages of the development of fruiting bodies of macroscopic fungi has been examined, among others on the example of *Coprinus cinereus* and *Flammulina velutipes* (Moore 1996). Analyses of the air and surface samples collected from the International Space Station, or from the “Mir” Orbital Space Station, showed the presence of microscopic fungi, among others, of the genus *Aspergillus*, *Penicillium* and *Saccharomyces* (Dadachova and Casadevall 2008). In 2011, the species *Ulocladium chartarum* was sent to the International Space Station to examine its potential for development and survival under micro-gravity and the impact of cosmic radiation (Gomoiu et al. 2013). In parallel with space investigations, experiments were conducted on the Earth where space and Martian conditions had been simulated in relation to fungi species, e.g. *Aspergillus niger* and *Candida albicans* (Yamazaki et al. 2012). Astrobiologists are strongly interested in the research subject matter being outlined since observations on the effect of space conditions on living organisms are treated as one of the main links in the search for life in Universe.

Kern, V. D., Berthol H. 1993. Fungi in space - literature survey on fungi used for space research. Microgravity science and technology, 6.3: 194-206.

Moore, D. 1996. Graviresponses in fungi. *Advances in Space Research*, 17.6: 73-82.

Dadachova E., Casadevall A. 2008. Ionizing radiation: how fungi cope, adapt, and exploit with the help of melanin. *Current opinion in microbiology*, 11(6), 525-531.

Gomoiu I., Chatzitheodoridis E., Vadrucchi S., Walther I., 2013. The Effect of Spaceflight on Growth of *Ulocladium chartarum* Colonies on the International Space Station. *PloS one*, 8.4: e62130.

Yamazaki T., Yoshimoto M., Nishiyama Y., Okubo Y., Makimura K. 2012. Phenotypic characterization of *Aspergillus niger* and *Candida albicans* grown under simulated microgravity using a three-dimensional clinostat. *Microbiology and immunology*, 56.7: 441-446.

Grzyby tomentelloidalne Polski widziane z perspektywy badań podziemnych zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych

Tomasz Leski*, Maria Rudawska, Leszek Karliński, Marcin Pietras
Pracownia Badania Związków Symbiotycznych, Instytut Dendrologii PAN
ul. Parkowa 5, 62-035 Kórnik; *tleski@man.poznan.pl

Grzyby tomentelloidalne (*Pseudotomentella* spp., *Tomentella* spp. i *Tomentellopsis* spp.), przedstawiciele rodziny Thelephoraceae, tworzące owocniki resupinatowe, należą do jednych ze słabiej rozpoznanych grup grzybów występujących na terenie Polski. Alternatywą dla poszukiwań owocników grzybów tomentelloidalnych jest analiza ich występowania na podstawie badań tworzonych przez nie ektomykoryz. Grzyby te są, bowiem bardzo istotnym elementem podziemnych zbiorowisk ektomykoryzowych i wchodzą w związki symbiotyczne z wieloma gatunkami drzew leśnych. Do identyfikacji partnera grzybowego w ektomykoryzach wykorzystywane są metody molekularne opierające się na sekwencjonowaniu zamplifikowanego regionu ITS rDNA grzybowego.

W trakcie badań mykoryzowych wykonywanych w różnych typach ekosystemów leśnych na terenie Polski (głównie w Pracowni Badania Związków Symbiotycznych Instytutu Dendrologii PAN) grzyby tomentelloidalne były notowane ponad 120 razy, na ponad 55 stanowiskach. Łącznie stwierdzono występowanie 2 gatunków z rodzaju *Pseudotomentella*, 15 z rodzaju *Tomentella* i 3 z rodzaju *Tomentellopsis*. Najczęściej występującymi gatunkami były *Tomentella sublilacina* (23 stanowiska), *T. stiposa* (16 stanowisk), *T. botryoides* (11 stanowisk) i *Pseudotomentella tristis* (11 stanowisk). Do gatunków stwierdzonych tylko na jednym stanowisku należały: *T. bryophylla*, *T. lateritia*, *Tomentellopsis echinospora* i *T. zygoesmoides*. Na jednym stanowisku badawczym stwierdzano od 1 do 8 przedstawicieli grzybów tomentelloidalnych. Grzyby te stanowiły średnio 7% ogólnej liczby obserwowanych ektomykoryz. Dzięki zastosowanej metodzie możliwe było stwierdzenie nowych dla terenu Polski gatunków. Gatunkami tymi są: *T. atroarenicolor*, *T. badia*, *T. castanea*, *T. italica*, *T. lapida*, *T. lilacinogrisea*, *Tomentellopsis sumbolis* i *T. zygoesmoides*.

Zaprezentowane wyniki wskazują, że badania podziemnych zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych mogą być z powodzeniem wykorzystywane do mapowania występowania poszczególnych gatunków grzybów, jak również dostarczyć informacji występowaniu gatunków dotąd nienotowanych.

Below-ground view on tomentelloid fungi in Poland

Tomasz Leski*, Maria Rudawska, Leszek Karliński, Marcin Pietras

Laboratory of Symbiotic Associations

Institute of Dendrology Polish Academy of Sciences

5 Parkowa St., PL-62-035 Kórnik; *tleski@man.poznan.pl

Tomentelloid fungi: *Pseudotomentella* spp., *Tomentella* spp. and *Tomentellopsis* spp. (members of the family Thelephoraceae) belong to the most important groups of ectomycorrhizal symbionts in boreal and temperate forests. Probably due to the production of specific, resupinate fruiting bodies, this group of fungi is one of the less recognized in the Polish funga. An alternative way of study of their distribution can be a below-ground investigation of ectomycorrhizal communities, with molecular identification of fungal symbionts.

During the mycorrhizal studies performed in different types of Polish forest ecosystems (mainly in the Laboratory of Symbiotic Associations, Institute of Dendrology) tomentelloid fungi were recorded more than 120 times, at up to 55 localities. Totally, on the area of Poland we found two species of *Pseudotomentella*, 15 species of *Tomentella* and 3 species of *Tomentellopsis*. The most frequently recognized species were *Tomentella sublilacina* (23 localities), *T. stuposa* (16 localities), *T. botryoides* (11 localities) and *Pseudotomentella tristis* (11 localities). Species found only at one locality were: *T. bryophylla*, *T. lateritia*, *Tomentellopsis echinospora* and *T. zygoesmoides*. On one, individual study site we found from one to 8 tomentelloid fungi. The mean relative abundance of tomentelloid fungal species was 7% of the total amount of sampled ectomycorrhizas (from 0.9 to 61.8%, depending on the study site). Based on molecular identification of fungal partner in ectomycorrhizas eight species new to Polish funga have been found: *T. atroarenicolor*, *T. badia*, *T. castanea*, *T. italica*, *T. lapida*, *T. lilacinogrisea*, *Tomentellopsis sumbolis* i *T. zygoesmoides*.

Presented results clearly indicate that below-ground studies of ectomycorrhizal communities offering a complementary view on fungal species diversity in particular forests habitats and may be used to mapping of ectomycorrhizal fungi.

Eliminacja alachloru przez grzyby strzępkowe z rodzaju *Trichoderma* w obecności metali ciężkich

Katarzyna Lis¹, Martyna Krzemińska¹, Adrian Soboń^{1,2}, Milena Piątek^{1,2},
Mirosława Słaba², Jerzy Długoński²

¹Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne, Wydział
Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

²Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i
Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Wstęp. Zastosowanie w przemyśle i rolnictwie różnych ksenobiotyków i metali ciężkich doprowadziło do zanieczyszczenia środowiska naturalnego związkami chemicznymi, które wcześniej nie były obecne w środowisku lub występowały w nim w niewielkich ilościach. Jednym z nich jest alachlor czyli 2'-6'-dietylo-N-(metoksymetylo)-chloroacetanilid. Jest on herbicydem anilidowym, powszechnie wykorzystywanym w rolnictwie jako środek chwastobójczy, do zwalczania traw oraz chwastów dwuliściennych w uprawach m.in. kukurydzy, rzepaku i ryżu. Po wielu latach aplikacji okazało się, że alachlor ma aktywność ksenoestrogenną, powodując zaburzenie funkcjonowania układu hormonalnego ludzi i zwierząt. Na tej podstawie zaliczony został do grupy związków określanych jako EDCs (ang. *Endocrine Disrupting Compounds*). Ze względu na dobrą rozpuszczalność w wodzie, łatwo migruje w środowisku i stanowi realne zagrożenie dla organizmów, szczególnie wodnych. Dodatkowym utrudnieniem w procesie degradacji ksenobiotyku ze środowiska jest obecność metali ciężkich, które często przyczyniają się do hamowania aktywności enzymów, biorących udział w tym procesie.

Cel. Celem pracy było poszukiwanie mikroskopowych grzybów strzępkowych z rodzaju *Trichoderma*, zdolnych do efektywnej eliminacji alachloru ze środowiska w obecności metali ciężkich.

Metody. Czyste i mieszane hodowle płynne grzybów strzępkowych prowadzono na podłożu Sabouraud oraz mineralnym wzbogaconym glukozą (2%) i ekstraktem drożdżowym (1%) z dodatkiem alachloru (50 mg/L) i w obecności rozpuszczalnych soli metali ciężkich. Próby homogenizowano, a następnie poddawano dwukrotnej ekstrakcji octanem etylu. Ilościową analizę zawartości substratu w ekstrakcie oraz jakościową identyfikację produktów rozkładu wykonano metodą HPLC MS/MS.

Wyniki. Spośród badanych izolatów *Trichoderma* pochodzących z kolekcji Katedry Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii UŁ, wyodrębniono szczepy wykazujące zdolność do eliminacji alachloru, a jednocześnie dobrze rosnące w obecności metali ciężkich. Na podstawie badań genetycznych, najbardziej aktywne szczepy zaliczono do gatunków: *T. hamatum*, *T. harzianum* i *T. atroviride*. W przypadku podłoża mineralnego z dodatkiem glukozy i ekstraktu drożdżowego proces eliminacji herbicydu zachodził szybciej, tzn. już w 72 h nie wykrywano alachloru w porównaniu do 96 oraz 120 h w podłożu Sabouraud. Obecność niklu oraz cynku w stężeniu 2,5 mM nie hamowała eliminacji alachloru przez *T. hamatum* oraz *T. atroviride*

podobnie jak dodatek cynku i ołowiu (2,5 mM) oraz kadmu (1 mM) w przypadku *T. harzianum*. Inaktywowana termicznie grzybnia miała znikomą zdolność do usuwania alachloru ze środowiska (około 20%).

Wnioski. Badane szczepy są zdolne do eliminacji alachloru w obecności metali ciężkich, zarówno na podłożu Sabouraud, jak i podłożu mineralnym wzbogaconym glukozą i ekstraktem drożdżowym, przy czym na drugim podłożu proces przebiega efektywniej i szybciej. Ograniczona zdolność do usuwania alachloru przez autoklawowane grzybnie oraz wykrycie w podłożu wzrostu pochodnych świadczy o tym, że proces eliminacji pestycydu ma charakter biotransformacji. Ponadto wykazano, że wybrane szczepy z rodzaju *Trichoderma* są zdolne do usuwania alachloru zarówno w hodowlach czystych jak i mieszanych.

Alachlor elimination by microscopic fungi from the genus *Trichoderma* in the presence of heavy metals

Katarzyna Lis¹, Martyna Krzemińska¹, Adrian Soboń^{1,2}, Milena Piątek^{1,2},
Mirosława Słaba², Jerzy Długoński²

¹Biotechnology and Microbiology Students Society “Bio-Mik”

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology

Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz

²Department of Industrial Microbiology and Biotechnology

Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź

12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź

Introduction. The use of different xenobiotics and heavy metals in industry and agriculture resulted in the environmental pollution with chemicals, which were not previously present in the environment or occurred only in small amounts. One of them is alachlor, 2'-6' diethyl-N-(methoxymethyl)--chloroacetanilide. It is an anilide herbicide commonly used in agriculture for control of grasses and broadleaf weeds in crops including corn, canola and rice. After many years of application, it turned out that it has a xenoestrogenic activity, causing disorder in human and animal endocrine systems. Based on these finding, alachlor has been included in the group of compounds referred to as EDCs (*Endocrine Disrupting Compounds*). Due to the good solubility in water, it readily migrates to the environment and poses a real hazard to the organisms, especially aquatic ones. An additional difficulty in the process of xenobiotic degradation in the environment is the presence of heavy metals, which often contribute to the inhibition of the activity of enzymes involved in this process.

Subject. The aim of the study was to research microscopic filamentous fungi of the genus *Trichoderma*, capable of efficient elimination of alachlor from the environment in the presence of heavy metals.

Materials and methods. Pure and mixed cultures of filamentous fungi were carried out on liquid Sabouraud and mineral medium enriched with glucose (2%) and yeast extract (1%) supplemented with alachlor (50 mg / L) and in the presence of soluble salts of heavy metals. The samples were homogenized, and

double extracted with ethyl acetate. Quantitative analysis of the alachlor content in the extracts and qualitative identification of by-products was performed by HPLC MS/MS.

Results. Among the tested *Trichoderma* isolates originating from the collection of KMPiB, the strains having the ability to eliminate alachlor and simultaneously to grow in the presence of heavy metals were selected. On the basis of genetic tests, the most active strains were included into species: *T. hamatum*, *T. harzianum* i *T. atroviride*. In the case of mineral medium supplemented with glucose and yeast extract herbicide the elimination process was faster and alachlor was not detected at 72 h compared to 96 - 120 h in Sabouraud medium. In the case of *T. hamatum* and *T. atroviride* the presence of nickel and zinc at the concentration of 2.5 mM as well as the addition of zinc and lead (2.5 mM) and cadmium (1 mM) in the case of *T. harzianum* did not inhibit the elimination of alachlor. The ability to remove alachlor from the environment by thermally inactivated mycelium was marginal (about 20%).

Conclusions. The test strains are capable to the elimination of alachlor in the presence of heavy metals, both in Sabouraud medium and mineral medium supplemented with glucose and yeast extract, but the process on the latter medium is more effective and faster. Limited ability to remove alachlor by autoclaved mycelia and detection of derivatives in the growth media indicate biotransformation as a process responsible for pesticide elimination. Furthermore, it has been shown that the selected strains of the genus *Trichoderma* are capable of alachlor removal both in pure and mixed cultures.

This study was supported by the National Science Centre in Cracow, Poland (Project No. UMO- 2011/01/B/NZ9/02898).

Etnomykologia grzybów jadalnych w Polsce od połowy XIX w. Co o zbieraniu grzybów mówią publikacje etnograficzne

Łukasz Łuczaj

Zakład Botaniki, Instytut Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych
Uniwersytetu Rzeszowskiego,

Werynia 502, 36-100 Kolbuszowa lukasz.luczaj@interia.pl

Polska jest przykładem kraju mykofilnego. Nigdy jednak nie dokonano całościowego podsumowania publikacji etnograficznych i etnomykologicznych dotyczących użytkowania grzybów. Pomimo że atlasy grzybów podają wiele gatunków jadalnych, użytkowanie jedynie części z nich jest ugruntowane w tradycji.

W swoim wystąpieniu przedstawię listę gatunków grzybów używanych na wsiach Polski uzyskaną przez zestawienie 12 prac. Uwzględniono tylko te prace, w których przynajmniej część gatunków zidentyfikowano przy użyciu nazwy łacińskiej.

Zanotowano używanie przynajmniej 80 taksonów grzybów (dokładna liczba zależy od interpretacji niektórych mniej pewnych informacji).

Ethnomycology of wild edible fungi in Poland since the 19th century: what ethnographic works say about mushroom use

Lukasz Łuczaj

Department of Botany, Institute of Applied Biotechnology and Basic Sciences
University of Rzeszów; Werynia 502, PL-36-100 Kolbuszowa;
lukasz.luczaj@interia.pl

Poland is a mycophilous country. However, a synthesis of publications concerning wild edible fungi has never been made there. This presentation is a progress report on this topic. Twelve works have been reviewed. At least 80 edible taxa were identified in them. The exact number depends on the interpretation of some less reliable pieces of data.

Status mykoryzowy i obecność grzybowych endofitów korzeniowych u 37 gatunków roślin obcego pochodzenia w Europie

Marta L. Majewska^{1*}, Janusz Błaszowski², Marcin Nobis¹,

Agnieszka Nobis¹, Daria Łakomiec¹, Paweł Czachura¹, Szymon Zubek¹

¹Instytut Botaniki, Uniwersytet Jagielloński

ul. Kopernika 27, 31-501 Kraków *marta_majewska1@wp.pl

²Katedra Ekologii, Ochrony i Kształtowania Środowiska, Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin

Mykoryza arbuskularna jest uważana za najbardziej powszechny typ mykoryzy, a tworzące ją grzyby mogą odgrywać istotną rolę w rozprzestrzenianiu się obcych gatunków roślin, które zagrażają bioróżnorodności. Jednocześnie obce gatunki roślin mogą wpływać na grzyby arbuskularne poprzez zmianę ich składu gatunkowego i liczebności propagul. W celu poznania interakcji, jakie zachodzą pomiędzy roślinami obcego pochodzenia a mikroorganizmami glebowymi i lepszego zrozumienia mechanizmów ich inwazji, określiliśmy status mykoryzowy, stopień kolonizacji mykoryzowej, morfologię mykoryz oraz obecność grzybowych endofitów korzeniowych u 37 gatunków roślin z 32 rodzajów i 17 rodzin. Materiał do badań zebrano z terenu południowej Polski.

Mykoryzę arbuskularną zaobserwowano u 35 analizowanych gatunków. Spośród badanych gatunków jedynie *Reynoutria (Fallopia) japonica* i *Typha laxmannii* nie tworzyły mykoryzy. Na podstawie obserwacji obfitości występowania struktur grzybów arbuskularnych w korzeniach, obliczano parametry mykoryzowe, takie jak frekwencja mykoryzowa (F), względna intensywność mykoryzowa (M) oraz względna obfitość arbuskul (A). Najwyższe średnie wartości badanych parametrów stwierdzono u *Asclepias syriaca* (F%=100; M%=91,1; A%=91,1), a najniższe u *Erechtites hieracifolia* (F%=4,4; M%=0,4; A%=0,4). Najczęściej występującym morfotypem mykoryzy był typ *Arum*, który stwierdzono u 33 gatunków. W przypadku *Solanum persicum* obserwowano typ pośredni, a u *Eragrostis albensis* zarówno morfotyp *Arum* jak i *Paris*. W korzeniach 32 gatunków stwierdzono

występowanie grzybów o ciemnych, septowanych strzępkach (tzw. *dark septate endophytes*, DSE), natomiast u 10 gatunków zaobserwowano sporangia grzybów z rodzaju *Olpidium*.

Dla 11 gatunków roślin status mykoryzowy został podany po raz pierwszy, a dla wszystkich badanych gatunków jest to pierwsze dokładne opracowanie, określające morfologię i stopień kolonizacji korzeni przez grzyby arbuskulare oraz obecność grzybowych endofitów korzeniowych. W dalszych etapach identyfikowane będą gatunki grzybów arbuskularnych związane z badanymi roślinami. Określony zostanie również wpływ monokultur tworzonych przez wybrane mykoryzowe i niemykoryzowe rośliny inwazyjne na dostępność propagul tych mikroorganizmów, a także oddziaływanie grzybów arbuskularnych na te rośliny.

Badania sfinansowano ze środków Narodowego Centrum Nauki, w ramach projektu nr DEC-2011/03/B/NZ8/00008.

The mycorrhizal status and the presence of fungal root endophytes in 37 plant species of alien origin in Europe

Marta L. Majewska^{1*}, Janusz Błaszczkowski², Marcin Nobis¹,
Agnieszka Nobis¹, Daria Łakomiec¹, Paweł Czachura¹, Szymon Zubek¹

¹Institute of Botany, Jagiellonian University

27 Kopernika St., PL-31-501 Kraków; *marta_majewska1@wp.pl

²Department of Ecology and Protection Environment

West Pomeranian University of Technology

17 Słowackiego St., PL-71-434 Szczecin

Arbuscular mycorrhiza (AM) is regarded as the most frequent type of mycorrhizal symbiosis. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) can play a significant role in the spread of alien plant species which threaten biodiversity. On the other hand, alien plants can also affect AMF species composition and the number of their propagules. In order to recognize the interactions between non-indigenous plants and soil microorganisms, and thus to better understand mechanisms of plant invasions, we examined mycorrhizal status, AMF colonization rate, AM morphology and the presence of fungal root endophytes in 37 species of alien origin in Europe that belong to 32 genera and 17 families. The plant material was gathered from southern Poland.

We found 35 analyzed species to form AM. Only *Reynoutria (Fallopia) japonica* and *Typha laxmannii* were non-mycorrhizal. On the basis of AMF abundance in roots, we calculated mycorrhizal parameters such as mycorrhizal frequency (F), relative mycorrhizal root length (M) and relative arbuscular richness (A). The highest mean values of these parameters were found in *Asclepias syriaca* (F%=100, M%=91.1, A%=91.1) and the lowest in *Erechtites hieracifolia* (F%=4.4, M%=0.4, A%=0.4). Thirty-three taxa formed AM of *Arum*-type, *Solanum persicum* showed intermediate AM morphology and *Eragrostis albensis* developed both types – *Arum* and *Paris*. The mycelium of dark septate endophytes (DSE) was observed in 32 plant species, whereas sporangia of *Olpidium* spp. were sporadically found in the roots of 10 species.

The mycorrhizal status of 11 alien species was reported for the first time. For all studied plants, it is the first detailed report about AM morphology, the degree of AMF colonization and the presence of fungal root endophytes. In the next stage of our research, AMF species associated with the plants under study will be identified. Moreover, the impact of monocultures formed by selected mycorrhizal and non-mycorrhizal invasive plants on AMF propagule abundance and the AMF impact on these plants will be examined.

This research received financial support from the Polish National Science Centre, under project DEC-2011/03/B/NZ8/00008.

Rzut oka na dzieje badań grzybów kapeluszowych w Polsce

Tomasz Majewski

Samodzielny Zakład Fitopatologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 159, 02-787 Warszawa; tomasz_majewski@sggw.pl

Pierwsze wzmianki o wymienionych grzybach podali autorzy naszych pierwszych dzieł przyrodniczych z XVI, XVII i XVIII wieku. Naukowe badanie mykoflory ziem polskich rozpoczęło się z początkiem XIX wieku w ośrodku uniwersyteckim wileńskim. Profesorowie tamtejszego uniwersytetu, ks. Stanisław Bonifacy Jundziłł i jego uczeń i następca Józef Jundziłł byli autorami dzieł opisujących rośliny Litwy w jej szerokim, historycznym ujęciu (S.B. Jundziłł 1811, J. Jundziłł 1830). Wiele miejsca poświęcili w nich grzybom, w tym grzybom kapeluszowym, dając opisy gatunków z ówczesnych, szeroko ujętych rodzajów *Agaricus* i *Boletus*. Erazm Majewski obronił na wydziale lekarskim U.J. rozprawę doktorską (1839), której tematem były grzyby trujące. Warszawski lekarz Julian Weinberg wydał (1852) książkę zawierającą opisy znajdujących w okolicach Warszawy pospolitych gatunków grzybów, zwracając szczególną uwagę na gatunki jadalne i trujące.

Pierwszym naszym botanikiem, który dał przegląd ważniejszych, obserwowanych przez siebie w terenie gatunków grzybów wielkoowocnikowych, był Feliks Berdau, wykładowca w Puławskim Instytucie Gospodarstwa Wiejskiego i Leśnictwa. Obszerny artykuł „Grzyby jadalne i jadowite krajowe” zamieścił w „Encyklopedyi Rolnictwa” (Berdau 1876), później artykuł „Grzyby trujące krajowe” w „Wiadomościach Farmaceutycznych (Berdau 1881) i w osobnej broszurze. Był także u nas pierwszym, który do swoich artykułów dołączył litografowane, barwne wizerunki opisywanych grzybów.

W badaniu naszej mykoflory zasłużyli się następnie studenci i absolwenci Cesarskiego Uniwersytetu Warszawskiego, Stanisław Chelchowski, Franciszek Błoński i Julian Stenhaus. Największy dorobek w tym zakresie miał Chelchowski, autor dwóch ważnych rozpraw. Pierwsza to wydana praca kandydacka (1888) o grzybach podstawkowych okolic Warszawy, w której podał stanowiska 540 gatunków wielkoowocnikowych. Druga (Chelchowski 1898) to obszernie, krytyczne zestawienie wszystkich dotąd znanych grzybów podstawkowych tej części zaboru rosyjskiego, którą określano mianem Królestwa Polskiego. Franciszek Błoński zbierał grzyby kapeluszowe w

Puszczy Białowieskiej (zupełnie pod tym względem nie badanej) i w wielu innych miejscach kraju. Wreszcie Julian Steinhaus był autorem opisów kilku nowych dla nauki gatunków z rzędu *Agaricales*. Nieco później zaczął publikować swoje cenne doniesienia o grzybach kapeluszowych okolic Międzyrzecza Bogumir Eichler (1900, 1904).

W Galicji nikt nie specjalizował się w omawianej tu trudnej grupie, niemniej profesorowie UJ Edward Janczewski i Marian Raciborski interesowali się grzybami, a wyniki badań ich uczniów zestawiał Namysłowski (1914). Wspomnieć jeszcze trzeba o próbach tamtejszych władz oświatowych upowszechnienia wiedzy o grzybach jadalnych i trujących: wydały one w Wiedniu tablice z wizerunkami tych grzybów, a także polskie objaśniające teksty (Bill 1860, Lorinser 1880). W okresie międzywojennym dużą rolę w upowszechnianiu wiedzy o grzybach odegrał Feliks Teodorowicz: był autorem wielu broszur i artykułów o grzybach kapeluszowych, o gatunkach jadalnych i szkodliwych, propagował uprawę pieczarek, opublikował też kilka przyczynków naukowych. Po II wojnie światowej decydująca dla rozwinięcia profesjonalnych badań interesujących nas grzybów była działalność prof. Aliny Skirgiełło. Kierowała Zakładem Systematyki i Geografii Roślin UW, i wielu swoich uczniów – także z innych ośrodków uniwersyteckich – namawiała do studiowania tej właśnie dziedziny mykologii. Zainicjowała i redagowała serię wydawniczą „Flora grzybów Polski” i sama była autorką jej pięciu tomów. Założyła czasopismo „Acta Mycologica” (1965) i redagowała je prawie do końca życia. Inicjowała i popierała badanie grzybów, szczególnie grzybów wielkoowocnikowych, a jej uczniowie pracują we wszystkich naszych ośrodkach uniwersyteckich.

W popularyzacji wiedzy o grzybach w latach powojennych zasłużył się także Henryk Orłoś, pracujący w Instytucie Badawczym Leśnictwa. Tematem jego prac badawczych były grzyby leśne, ze szczególnym uwzględnieniem ich roli w biocenozie. Był także autorem popularnych atlasów – przewodników do określania pospolitszych, jadalnych i trujących gatunków; na przestrzeni wielu lat, począwszy od 1949, wyszły one drukiem w jedenastu wydaniach.

A glance at the history of research on mushrooms in Poland

Tomasz Majewski

Department of Plant Pathology, The Warsaw University of Life Sciences
159 Nowoursynowska St., PL-02-787 Warszawa; tomasz_majewski@sggw.pl

The first mentions on mushrooms from Poland can be found in works of early Polish naturalists from XVIth, XVIIth and XVIIIth century. The scientific research on diversity of these fungi from Polish territory started at XIXth century at Vilnius University. The professors of this university, priest Stanisław Bonifacy Jundziłł with his student and successor Józef Jundziłł, were authors of papers describing Lithuanian flora in its large, historical sense (Jundziłł S.B. 1811; Jundziłł J. 1830). A large part of these works was devoted to Fungi (especially mushrooms), including characteristics of genera *Agaricus* and *Boletus* sensu lato. Erazm Majewski defended his PhD thesis (1839) devoted

to poisonous fungi at Collegium Medicum of Jagiellonian University. Varsovian doctor, Julian Weinberg, published in 1852 a book including descriptions of common fungal taxa found around Warsaw. He paid special attention to edible and poisonous taxa.

The first Polish botanist who gave an overview of fungal species that he had observed in field was Feliks Berdau, lecturer of Puławski Instytut Gospodarstwa Wiejskiego i Leśnictwa. His large comprehensive paper entitled „Grzyby jadalne i jadowite krajowe” [Edible and toxic Fungi from Poland] was published in ‘*Encyklopedia Rolnictwa*’ [Encyclopedia of Agriculture] (1876, Warsaw). Then the paper ‘Grzyby trujące krajowe’ [Toxic Fungi from Poland] was published in ‘*Wiadomości Farmaceutyczne*’ [Farmacological News] as well as in a separate leaflet. He was also the first Polish author who included colourful, lithographed illustrations in his papers.

Next, the group of students and alumnus from Cesarski Uniwersytet Warszawski, namely Stanisław Chelchowski, Franciszek Błoński and Julian Stenhaus, contributed a lot to research on Polish Funga. Among them Stanisław Chelchowski, who was an author of two important dissertations, was the most famous. First of aforementioned works was his candidate dissertation (pol. *praca kandydacka*; Chelchowski 1888) about basidiomycetes of the Warsaw region, in which he listed locations of 540 species of macromycetes. The second one (Chelchowski 1898) was large and critical inventory of all basidiomycetes from this part of Russian annexion that was called Królestwo Polskie [Kingdom of Poland]. Franciszek Błoński was collecting macromycetes mainly in the mycologically unexplored Puszcza Białowieska (Białowieża Primeval Forest), as well as in other regions of the country. Julian Steinhaus was an author of some new species from *Agaricales* order. Later on, Bogumir Eichler (1900, 1904) published his precious contributions to the knowledge of mushrooms of Międzyrzec.

In Galicia there was none who was professionally working on mushrooms. However, Edward Janczewski and Marian Raciborski, two professors from Jagiellonian University, were interested also in this group of organisms. The results of the observations of their pupils were than compiled by Namysłowski (1914). Worth noting is also the fact that the local educational authorities of Galicia tended to spread the knowledge about edible and poisonous fungi. This yielded with educational plates of these fungi, including Polish explanations that were published in Viena (Bill 1860, Lorinser 1880). Feliks Teodorowicz contributed a lot to popularization of knowledge about mushrooms in the Inter-War period. He authored several leaflets, articles and few scientific contributions about mushrooms and about edible and harmful species; he also promoted mushroom growing. After World War II the activity of Professor Alina Skirgiełło played a crucial role in development of professional research on mushrooms and Fungi in Poland. She was a chief of Department of Plant Systematics and Geography at the University of Warsaw and she prompted a lot of her students (also from other universities) to undertake research on this group of organisms. She initiated and was the editor of series ‘*Flora Polski. Grzyby (Mycota)*’ and on her own she was an author of its five volumes. She established journal ‘*Acta Mycologica*’ (1965) and was its editor almost until

her death in 2007. She initiated and supported field research on Fungi, mainly mushrooms. Her students, graduates and successors are now still working in almost all of Polish universities.

Henryk Orłoś, working in Instytut Badawczy Leśnictwa, also contributed a lot to popularization of knowledge about mushrooms at this period. He focused mainly on forest fungi and their role in biocoenosis. He was also an author of several popular, illustrated guidebooks to an identification of common, edible and toxic species. Since 1949 they were reissued (11 editions).

Berdau F. 1876. Grzyby jadalne i jadowite krajowe. Encyklopedia Rolnictwa t. 3 s. 75-155, tabl. 1-8.

Berdau F. 1881. Grzyby trujące krajowe. Wiadomości Farmaceutyczne 8 s. 349-370, 403-457 (także w odtłoczce z kol. tabl.).

Bill J. J. 1860. Najważniejsze grzyby jadalne i jadowite. Wyjaśnienia do tablic ściennych szkolnych... Wiedeń.

Chelchowski S. 1888. Bazidial'nye griby okrestnostej Varšavy. Varšava.

Chelchowski S. 1898. Grzyby podstawkozarodnikowe Królestwa Polskiego (Basidiomycetes Polonici). Część I. Autobasidiomycetes. Podstawczaki. Pamiętnik Fizyograficzny 15 dz. III s. 3-285.

Eichler B. 1900. Materiały do flory grzybów okolic Międzyrzecza. Pamiętnik Fizyograficzny 16 dz. III s. 157-206.

Eichler B. 1904. Drugi przyczynek do flory grzybów okolic Międzyrzecza. Pamiętnik Fizyograficzny 18 dz. III s. 1-31.

Jundziłł J. 1830. Opisanie roślin w Litwie, na Wołyniu, Podolu i Ukrainie dziko rosnących, iako i oswoionych. Wilno.

Jundziłł S. B. 1811. Opisanie roślin litewskich według układu Linneusza. Wilno.

Lorinser F. W. 1880. Najważniejsze grzyby jadalne, podejrzone i jadowite. Lwów.

Majewski E. 1839. O grzybach jadowitych krajowych. Kraków.

Namysłowski B. 1914. Śluzowce i grzyby Galicji i Bukowiny. Pamiętnik Fizyograficzny 22 1-151.

Weinberg 1852. O grzybach i bedłkach jadowitych i jadalnych krajowych oraz o niesieniu pomocy otrutym jadowitemi. Warszawa.

Historia oraz obecne kierunki i perspektywy badań grzybów chorobotwórczych dla roślin w Polsce

Małgorzata Mańka

Katedra Fitopatologii Leśnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 71c, 60-625 Poznań; mmanka@up.poznan.pl

Choroby roślin powodowane są w przytłaczającej większości przypadków przez grzyby. Mykologia jest więc znaczącą nauką w fitopatologii, zwłaszcza odkąd w XVIII wieku zaczęto poznawać właściwą naturę grzybów fitopatogenicznych, które wcześniej uważano za wytwór chorej rośliny. Wiek XIX przyniósł rozkwit wiedzy o chorobach roślin powodowanych przez grzyby. W 1880 roku – 22 lata po ukazaniu się pierwszego nowoczesnego podręcznika fitopatologii autorstwa Juliusza Kühna, Szczęsny Kudelka wydał „Choroby roślin gospodarskich” – pierwszy polski podręcznik z tego zakresu. Ten okres uważamy za początek zainteresowania chorobami roślin i ich

etiologią, czyli – w istocie – grzybami. Badania grzybów powodujących choroby roślin rolniczych i ogrodniczych prowadzono na ziemiach polskich pod wszystkimi zaborami, a po wyzwoleniu Polski w 1918 roku – we wszystkich ośrodkach badawczych związanych z rolnictwem, a także leśnictwem. Były to przede wszystkim prace nad identyfikacją patogenów powodujących poszczególne choroby, ich biologią – w związku z patogenezą, oraz ochroną roślin przed chorobami. W Uniwersytecie Poznańskim zrodziła się w latach 20. ubiegłego wieku koncepcja scharakteryzowania gleb Polski za pomocą zasiedlających je grzybów, która na owym etapie przyniosła skutek w postaci znakomitego opracowania rodzaju *Penicillium* (K. Zaleski 1926/27), które zyskało światowy rozgłos. Po II wojnie światowej badania grzybów patogenicznych dla roślin początkowo poszły w kierunku czysto etiologicznym, stanowiąc podstawę dla opracowania ochrony roślin przed chorobami, zwłaszcza metodą chemiczną. Rozwijające się równolegle badania nad ekologicznym uwarunkowaniem rozwoju grzybów i przebiegu chorób roślin stanowiły początkowo margines. Stopniowo jednak, zwłaszcza od lat 70. XX wieku, zaczęły nabierać większego znaczenia, prowadząc do lepszego rozpoznania uwarunkowań chorób roślin i do wypracowania sposobów biologicznej ochrony roślin przed chorobami. Zaczęto charakteryzować gleby za pomocą zasiedlających je zbiorowisk grzybów saprotroficznych, określając wpływ tych zbiorowisk (a pośrednio i gleb) na wzrost grzybów patogenicznych. Powstała możliwość rozpoznania i kształtowania warunków środowiska gleb owego w sposób niekorzystny dla patogenów glebowych a korzystny dla roślin.

Stosowane od dwóch dekad do badania grzybów metody molekularne otworzyły nowe perspektywy. Poza szybką i dokładną identyfikacją grzybów wyizolowanych z roślin, gleby i wody umożliwiają one wykrywanie obecności patogenicznych grzybów w roślinach w stadium inkubacji, kiedy jeszcze nie widać objawów chorobowych a możliwości zastosowania skutecznej ochrony (dość przyjaznej dla środowiska) są największe. Metody te pozwalają też na szybkie charakteryzowanie całych populacji patogenów, z punktu widzenia różnicowania między- i wewnątrzgatunkowego. Znacznie przyspieszają również badanie zbiorowisk grzybów zasiedlających określone środowiska, jak np. glebę, aczkolwiek w tym zakresie pozostaje jeszcze sporo problemów metodycznych.

Przyszłość badań molekularnych grzybów w fitopatologii jest bardzo obiecująca, ale zarazem najeżona trudnościami. Z jednej strony szybka i pewna identyfikacja patogenów, zwłaszcza w warunkach ciągłego ich napływu z materiałem roślinnym (często jako gatunków inwazyjnych), a z drugiej szczupłość baz danych i ich niewystraszająco uporządkowana zawartość – oto z czym mamy i będziemy jeszcze mieć do czynienia.

History and contemporary trends and prospects of fungal research in plant pathology in Poland

Małgorzata Mańka

Department of Forest Pathology, Poznań University of Life Sciences
71c Wojska Polskiego St., PL-60-625 Poznań; manka@up.poznan.pl

Diseases of plants are mostly caused by fungi. Thus, mycology is crucial for plant pathology, particularly since XVIII century when fungi started to be recognized as organisms separate and different from plants (earlier considered products of diseased plant). The XIX century brought development of knowledge about plant disease caused by fungi. In 1880 – twenty two years after the first modern handbook of plant pathology by Julius Kühn, Szczesny Kudelka published ‘Choroby roślin gospodarskich’ [Diseases of domestic plants] – the first Polish handbook on phytopathology. The time is considered the beginning of interest in plant diseases and their aetiology that is, in fact – fungi. Research on fungi causing diseases of agricultural and horticultural plants was conducted in Polish lands of all three partitions, and after 1918 – in all research centres dealing with agriculture and forestry. These were mostly focused on identification of pathogens causing particular diseases, their biology – connected with pathogenesis, and protection of plants against diseases.

In the Poznań University a concept arose in 1920. to characterize the soils of Poland with the soil-inhabiting fungi. At that stage it resulted “only” with an outstanding work on the *Penicillium* genus (K. Zaleski 1926/1927), world known. After World War II work on plant pathogenic fungi aimed at the beginning to pure aetiology, as a basis for plant protection, particularly with the chemical method. Works on ecological conditions of fungal growth and pathogenesis (developing at the same time) were a tiny part of the entire work at the beginning. However, from the 1970. on the research started to be more and more important, leading to better recognition of plant disease circumstances and elaboration of biological control of plant diseases. Soils could be characterised by communities of saprotrophic fungi living in them, and the effect of these communities (equal to the soil effect) on soilborne pathogenic fungi was defined. That resulted in recognition and shaping of soil environment conditions so as to suppress the pathogen and support the plant.

From two decades now molecular methods are applied for fungi investigation, with new prospects for plant pathology. Apart from quick and accurate identification of fungi isolated from plants, soil or water, detection of fungi in plants at the stage of incubation when no symptoms are visible, is possible. That greatly increases chances of effective and fairly environment friendly plant protection against diseases. Molecular methods contribute also to quick characterization of entire pathogen populations, both from the intra- and interspecies point of view. They may also speed up investigating fungal communities in their natural environment, e.g. soil, though there are quite a lot of technical problems still.

The future of molecular research of fungi in plant pathology seems promising and, at the same time, quite tricky. On one hand quick and accurate identification of pathogens, particularly under the condition of their permanent flow with plant material (often as invasive species), on the other hand scarce data in data bases and their untidy contents – these are present and future problems for plant pathology.

Aktywność biochemiczna wybranych peryfitonowych Oomycetes

Kinga Mazurkiewicz-Zapałowicz*, Maria Wolska

Katedra Hydrobiologii, Ichtiologii i Biotechnologii Rozrodu

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

ul. K. Królewicza 4, 71-550 Szczecin; *kmazurkiewicz@zut.edu.pl

Mikroorganizmy, a wśród nich mykobiota, związane z planktonem i peryfitonem aktywnie uczestniczą w funkcjonowaniu sieci zależności międzygatunkowych. O wyjątkowym znaczeniu mykobiota w tym procesie decyduje ich aktywność metaboliczna. Stąd też podjęto badania, w celu poznania aktywności biochemicznej *Pythium* sp. szczep 55 (Oomycetes) związanego z wieloma gatunkami organizmów planktonowych i peryfitonowych.

Materiał badawczy pozyskiwano metodą „przynęt”, z prób wody na stanowiskach litoralu jeziora Płociczno w Drawieńskim Parku Narodowym, w sierpniu 2011. Spośród wielu izolatów do dalszych badań biochemicznych wykorzystano *Pythium* sp. szczep 55, hodowany przez 21 dni na podłożach: PDA, CDA i MEA. Aktywność enzymatyczną oznaczono na podstawie testu Api-ZYM, który pozwala na wykrycie 19 enzymów hydrolitycznych, na podstawie 6-cio stopniowej skali barwnej, w której ‘0’ – odpowiada reakcji ujemnej, a ‘5’ – reakcji o maksymalnej aktywności enzymatycznej.

Przeprowadzone badania wykazały zdolność produkcji 4 enzymów przez szczep *Pythium* sp. 55, rozwijający się na wszystkich testowanych podłożach. Enzymy te to: esterazy [fosfataza alkaliczna (ALP), kwaśna fosfataza (ACP)], celulazy [β -glukozydaza] oraz fosfohydrolaza naftylo AS-BI. Na podłożu MEA wszystkie wymienione enzymy syntetyzowane przez *Pythium* sp. 55 wykazywały maksymalną aktywność hydrolityczną (5). Na podłożach PDA i MEA aktywność tych enzymów była mniejsza (3). Stwierdzona mykolipaza, jako związek katalizujący rozkład estrów fosforanowych może prowadzić do uwalniania fosforanów, co ma wpływ na zwiększenie tempa eutrofizacji wody. Ponadto hydroliza wiązań estrowych w tłuszczach może inicjować porażenie wielu organizmów przez patogeny. Fakt ten pośrednio potwierdza aktywność badanego szczepu w funkcjonowaniu pętli mikrobiologicznej. Podobnie jak u większości organizmów patogenicznych, aktywność lipolityczna badanego szczepu *Pythium* sp. 55, może powodować zmiany przepuszczalności błon komórkowych i zaburzać przebieg metabolizmu organizmów żywicielskich, co prowadzi do patologii a nawet śmierci żywiciela. Biosynteza innego enzymu – β -glukozydazy (celobiozy) przez szczep *Pythium* sp. 55 wskazuje na możliwość jego udziału w mineralizacji szczątków roślinnych, szczególnie celulozy.

Biochemical activity of selected periphytic Oomycetes

Kinga Mazurkiewicz-Zapałowicz*, Maria Wolska

West Pomeranian University of Technology in Szczecin

Department of Hydrobiology Ichthyology and Biotechnology of Reproduction

4 K. Królewicza St., PL-71-550 Szczecin *kmazurkiewicz@zut.edu.pl

Organisms forming plankton and periphyton are an important qualitative and functional element in water reservoirs. As chains of producers and consumers, they form a network of complex interactions between species. Microorganisms, including mycobiota, possess exceptional importance in the functioning of these networks, thanks to which plankton and periphyton are part of the microbial loop. The dynamics of this loop depends to a large extent on the metabolic activity of microorganisms. Knowledge in this field concerning mycobiota is still very fragmentary. Therefore, the study has been carried out in order to investigate the biochemical activity of *Pythium* sp. (Oomycetes) associated with many species of planktonic and periphytic organisms.

The research material was isolated from water samples of a 500 ml volume each, collected together with the samples of zooplankton and periphyton at the marked sites (5 sites) in the littoral zone of Lake Płociczno in Drawa National Park, summer 2011 (August). The "bait" method was used, for the isolation of mycobiota, in the form of substrates of plant origin (seeds of sesame and hemp) and animal origin (wings of insects, fish roe, shells of dead shellfish). The substrates were placed in sterile plastic containers, poured over with the water collected in the field and continuously aerated using aquarium pump for 7 days. Then samples were transferred to the incubator (10-12°C) for 21 days. The mycelium growing on the "traps" was observed under a microscope Nikon Eclipse E200 and inoculated on agar media, first on Sabouraud's medium with chloramphenicol, and in the following passage on PDA. After 14 days of culture, the strains were determined using Rietmüller's key (2000). Isolate of *Pythium* sp. strain 55 were used in further biochemical tests, cultured for 21 days on the following media: PDA, CDA and MEA. The enzymatic activity was determined using the Api-ZYM test (Bio-Mérieux), which allows for detection of 19 hydrolytic enzymes. Mycelium suspension was prepared according to the manufacturer's instructions, and test results were evaluated according to the attached 6-point color scale [0-5], where '0' corresponded to a negative reaction, and a '5' was a reaction of maximum enzymatic activity.

The analysis of the enzymatic activity using Api-ZYM test demonstrated the ability of *Pythium* sp. strain 55, which grew on all media tested, to produce 4 enzymes. These enzymes included esterases [alkaline phosphatase (ALP), acid phosphatase (ACP)], cellulases [β -glucosidase] and naphthol-AS-BI-phosphohydrolase. The enzymes synthesized by *Pythium* sp. 55 showed a maximum hydrolytic activity on the MEA medium (5). The activity of these enzymes was lower on the PDA and CDA media (3). Mycotic lipases have been identified as compounds catalyzing the dephosphorylation of phosphate

esters that can lead to the release of phosphate, contributing to the increased rate of water eutrophication. Moreover, the hydrolysis of ester bonds in lipids may initiate infections of numerous organisms by pathogens, leading to the reduction of the host populations. This fact indirectly confirms the participation of the test strain in the functioning of the microbial loop. Similarly as most pathogenic organisms, lipolytic activity of *Pythium* sp. strain 55 may cause changes in the permeability of cell membranes and interfere with the metabolism of host organisms, leading to the pathology and even death of the host.

Biosynthesis of another enzyme, β -glucosidase (cellobiose) by the test strain *Pythium* indicates the possibility of its involvement in the mineralization of plant debris, cellulose in particular. β -glucosidase, in the process of hydrolysis of cellulose, functions exclusively in a complex of three other enzymes, and without them it cannot participate in the breakdown of these carbohydrates. Proven enzymatic activity of *Pythium* sp. 55 indicated the importance of FLO in the mineralization processes of both plant and animal organic matter. The strain investigated exhibited higher affinity for animal material due to the specificity of the enzymes produced and lack of enzymes enabling complete mineralization of cellulose.

The studies were supported by Ministry of Science and Higher Education, grant No NN 304 385 639. The authors of the paper thank the Management of Drawa National Park (Poland) for their help in collecting the research material.

**Analiza zbiorowisk ektomykoryz dębika ośmiopłatkowego
Dryas octopetala L. w populacjach wysokogórskich oraz reliktowych
populacjach reglowych w Karpatach**

Piotr Mleczko^{1*}, Anna Ronikier², Michał Ronikier²

¹Instytut Botaniki, Uniwersytet Jagielloński
ul. Kopernika 27, 31-501 Kraków; *piotr.mleczko@uj.edu.pl

²Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk
ul. Lubicz 46, 31-512 Kraków

Dębik ośmiopłatkowy (*Dryas octopetala*) jest jedną z nielicznych roślin arktyczno-alpejskich, które tworzą symbiozę ektomykoryzową. W Karpatach krzewinka ta występuje przede wszystkim w piętrach wysokogórskich, gdzie jej partnerami mykoryzowymi są głównie grzyby arktyczno-alpejskie. Znane są również nieliczne, reliktowe stanowiska tego gatunku położone znacznie niżej, w piętrze dolnoreglowym. Celem niniejszego projektu jest analiza zbiorowisk ektomykoryz dębika ośmiopłatkowego z typowych – alpejskich/sub-alpejskich oraz reliktowych – reglowych stanowisk rośliny, w celu określenia głównych czynników, które determinują skład i bogactwo gatunkowe grzybów tworzących symbiozę z roślinami arktyczno-alpejskimi. Ponieważ różnorodność gatunkowa grzybów ektomykoryzowych *D. octopetala* w Karpatach nie była do tej pory badana, uzyskane dane poszerzą również wiedzę na ten temat.

Materiał do badań pochodzi z 60 prób korzeniowych *D. octopetala* pobranych na sześciu stanowiskach (po dwa stanowiska na piętro roślinne, dziesięć prób na stanowisko, zebranych w dwóch sezonach wegetacyjnych), zlokalizowanych w Karpatach Zachodnich (Tatry, Mała Fatra, Góry Choczańskie, Pieniny, Słowacki Raj). W pierwszym etapie badań wyizolowane ektomykoryzy podzielone zostały na morfotypy, które w kolejnym etapie zostaną poddane identyfikacji molekularnej. Prezentowane wyniki oparte są na obserwacjach morfotypów. W analizowanych próbach korzeniowych zidentyfikowano ponad 60 morfotypów ektomykoryz, których ponad połowa stwierdzona została na pojedynczych stanowiskach. Jedynie kilka morfotypów występowało we wszystkich trzech piętrach roślinnych. Jednym z nich była mykoryza tworzona przez kosmopolityczny gatunek grzyba workowego, *Cenococcum geophilum*. Gatunek ten obecny był również w niemal wszystkich analizowanych próbach, jednak obfitość jego mykoryz spadała wraz z wysokością nad poziomem morza. Oprócz wspomnianego gatunku, w próbach zidentyfikowano również kilka morfotypów tworzonych przez inne grzyby workowe, m.in. z rodzaju *Tuber* oraz przez grzyby podstawkowe m.in. z rodzajów *Cortinarius*, *Hydnum*, *Russula* i *Tomentella*. Nie stwierdzono istotnych różnic w bogactwie morfotypów ektomykoryz pomiędzy stanowiskami z różnych pięter roślinnych, co pozwala na stwierdzenie, że bogactwo gatunkowe grzybów ektomykoryzowych dębika z reliktowych, dolnoreglowych stanowisk jest porównywalne z bogactwem gatunkowym grzybów ektomykoryzowych tej rośliny w typowych, wysokogórskich siedliskach. Analiza genetyczna pozwoli na bardziej szczegółowe porównanie składu taksonomicznego zbiorowisk ektomykoryz, w tym na stwierdzenie, lub arktyczno-alpejskie gatunki grzybów są obecne w reliktowych populacjach położonych w piętrach leśnych.

Badania finansowane były ze środków Narodowego Centrum Nauki, w ramach projektu nr N N303 308237.

**Analysis of ectomycorrhizal communities of *Dryas octopetala* L.
in high-mountain and relict forest populations in the Carpathians**

Piotr Mleczko^{1*}, Anna Ronikier², Michał Ronikier²

¹Institute of Botany, Jagiellonian University

27 Kopernika St., PL-31-501 Kraków; *piotr.mleczko@uj.edu.pl

²Institute of Botany, Polish Academy of Sciences

46 Lubicz St., PL-31-512 Kraków

Mountain avens (*Dryas octopetala*) is one of few arctic-alpine plants that form ectomycorrhizal symbiosis. In the Carpathians this dwarf shrub grows predominantly in the high-mountain vegetation zones where it forms symbiosis with arctic-alpine fungi. There are also a few populations situated much lower, in the forest zone, considered post-glacial relicts. The aim of the present study is to analyse the ectomycorrhizal communities of *D. octopetala* in high mountain and relict low-elevation stands to identify the main factors, which determine species composition and species richness of mycorrhizal

fungi symbiotic with arctic-alpine plants. Obtained results will also broaden the knowledge of the species diversity of fungi associated with *D. octopetala* in the Carpathians, as this subject was poorly addressed so far.

The root material used for analysis was collected from 60 samples gathered on six *D. octopetala* stands (two replicates per vegetation zone, ten samples per stand – collected during two vegetation seasons), localized in the Western Carpathians (Tatra Mts., Mała Fatra Mts., Chočské Vrchy Mts., Pieniny Mts. and Slovenský Raj Mts.) In the first step of research, mycorrhizae were grouped into morphotypes. Presented results are based on these morphological investigations. Presence of more than 60 morphotypes was noted, half of which were found on single stands. Only a few morphotypes were present at all three vegetation zones, one of them being formed by the ubiquitous ascomycete, *Cenococcum geophilum*. This fungus was also present in almost all investigated samples, however, its abundance decreased with elevation above sea level. Apart from *C. geophilum*, also other ascomycetes, e.g. *Tuber* sp., as well as basidiomycetes from various genera, e.g. *Cortinarius*, *Hydnum*, *Russula* and *Tomentella*, were identified as fungal symbionts forming particular morphotypes. No significant differences were observed with regard to ectomycorrhizal morphotype richness between stands from different vegetation zones. Thus, we can assume that the communities of ectomycorrhizae of *Dryas octopetala* are not impoverished in relict localities of the species. The genetic analysis of mycorrhizae will further allow a more detailed assessment of taxonomic diversity of fungal communities and checking whether arctic-alpine mycorrhizal fungi accompany the plant in the relict, low-elevation sites.

The research was supported by the Polish Ministry of Science and Higher Education (grant No. N N303 308237).

Akumulacja gamma-radionuklidów w owocnikach *Pleurotus ostreatus* jako potencjalny indykator zanieczyszczeń środowiska

Ewa Moliszewska*, Agnieszka Dołhańczuk-Śródka, Zbigniew Ziembik

Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej

Uniwersytet Opolski, ul. Kominka 6, 45-035 Opole; *ewamoli@uni.opole.pl

W pracy dokonano wstępnej oceny zdolności akumulacji izotopów gamma-promieniotwórczych przez *P. osteratus*, pod kątem jego potencjalnego wykorzystania, jako znacznika atmosferycznej depozycji materiałów promieniotwórczych.

Zawartość izotopu K-40 w potasie jest stała i wynosi 0,0119%. Jego najniższe stężenie stwierdzono w najmłodszych owocnikach. Izotop Cs-137 jest sztucznym radionuklidem, jego najwyższa koncentracja występowała w najstarszych owocnikach, podczas gdy w młodych i dojrzałych była podobna. Prawdopodobnie, wzrost owocników jest powiązany z ciągłym poborem Cs-137 z otoczenia.

Radioizotop Pb-210 znaleziono w młodych owocnikach, co może oznaczać, że izotop ten pojawia się w grzybni tylko podczas formowania owocowania.

W starych owocnikach wykryto izotop Pb-212.

Accumulation of gamma radionuclides in *Pleurotus ostreatus* as an indicator of environmental pollution

Ewa Moliszewska*, Agnieszka Dołhańczuk-Śródka, Zbigniew Ziembik
Faculty of Natural Sciences and Technology, Opole University
6 Kominka St., PL-45-035 Opole *ewamoli@uni.opole.pl

Mushrooms can collect lots of elements including the toxic and radioactive ones. Mushrooms or single mycelia are considered as good biomass for binding heavy metals. Between various fungi known to bind heavy metals, mycelium of *Pleurotus sajor-caju* can be used to remove Cd by means of fungal biomass.

Pleurotus ostreatus is one of broadly cultivated mushrooms as well as it can grow as saprotrophic organism on various substrates, f. ex. trunks. In our work we used naturally occurred *P. ostreatus* fruiting bodies as a potential marker of atmospheric deposition of the radioactive material.

The samples of *P. ostreatus* fruiting bodies were collected from the trunk of living lime-tree (*Tilia cordata*) growing on the side of the average busy road in the center of Opole. They were collected during two winter seasons: the end of November (2012), the end of December (2013) and the end of February (2014). Additionally the age of the fruiting bodies was qualified.

Measurements of the gamma radionuclides activity concentration in dried samples were carried out by means of a gamma-spectrometer with a germanium detector HPGe (Canberra) of high resolution. Some radionuclides were determined in each sample, and some of them appeared in determinable concentrations only in single samples. In table the activity concentrations of radionuclides a , and the measurements uncertainties, σa , are shown. The values lower than minimum detectable activity (MDA) are marked with <MDA.

The abundance of K-40 in potassium is 0.0119%. Because of the constant content, activity concentration of K-40 is the measure of the total potassium concentration. It was observed that potassium concentration in fruiting bodies was similar, though it was the lowest in the young specimen (tab. 1).

Table 1. The gamma radionuclides activity in dried samples of fruiting bodies

Time (age)	a_{K-40} [kBq/kg]	σa_{K-40} [kBq/kg]	a_{Cs-137} [Bq/kg]	σa_{Cs-137} [Bq/kg]	a_{Pb-210} [Bq/kg]	σa_{Pb-210} [Bq/kg]	a_{Pb-212} [Bq/kg]	σa_{Pb-212} [Bq/kg]
November 2012 (mature)	1.059	0.040	4.76	0.64	<MDA	–	<MDA	–
December 2013 (young)	0.941	0.039	5.30	0.75	45.2	44.9	<MDA	–
February 2014 (old)	1.050	0.033	10.08	0.46	<MDA	–	1.27	0.28

The Cs-137 isotope is the artificial radionuclide, with half-life time 30.1 years. Its circulation in environment started about 70 years ago. It was a product of a number of nuclear tests or incidental, uncontrolled releases, like

for example, accidents in Chernobyl (1986) and Fukushima Dai-Ichi (2011) nuclear power plants.

The Cs-137 is present in environment up to now, and it was also determined in the investigated mushroom samples. Both, direct atmospheric deposition on the surface and transport from background via mycelium, could deliver Cs-137 to the fruiting bodies. Activity concentration of this radioisotope was also related with the age of the mushroom. The biggest concentration was determined in old specimen, while in the young and mature ones it was similar (tab.1). Probably growth of the fruiting body was associated with continuous intake of Cs-137 from surrounding.

The Pb-210 radioisotope was found in young mushrooms (tab.1), though the measurement uncertainty was significant. This radioisotope is the member of the natural uranium decay series. Its half-time is 22.2 years, which is significantly longer than that for Pb-210 ancestors in decay series. It could be supposed that Pb-210 appeared primarily in mushroom and its presence is not a result of radioactive decay of its closest ancestors in decay series. In the mature and old mushrooms activity concentration of Pb-210 was lower than MDA. It could be concluded that this isotope appeared in mushroom surrounding only in a period of time, at the beginning of fruiting bodies growth. Subsequent increase in mass of mushroom caused decrease in Pb-210 concentration and fall of activity concentration below MDA.

In old mushrooms the Pb-212 isotope was determined (tab.1). It is a member of the natural thorium decay series. Its half-life time is not long (only 10.6 h). Its possible source is Th-228 with half-life time 1.9 years. Occurrence of Pb-212 in fruiting bodies of old specimen supposed deposition of the radioisotope from atmosphere or migration from background. This process was slower than increases in mass of the mushroom.

Challenges and opportunities for fungal conservation

Gregory M. Mueller

Chief Scientist, Chicago Botanic Garden, Glencoe, Illinois, USA

Chair, IUCN Specialist Group on Mushrooms, Brackets, and Puffballs

Fungal conservation is a relatively new focus for both the mycological and conservation community. Yet, major strides are being made. The elevation of Fungi to an independent area of focus with five discrete Specialist Groups by the IUCN Species Survival Commission in 2009 was an important advance. More recently, IUCN members passed an important resolution during the World Conservation Congress in 2012 calling for "... all of the component parts of IUCN ... and the conservation movement more generally, to place much greater emphasis and priority on the conservation of fungi ..."

There are now national and regional fungal conservation committees throughout most of the world. The International Society for Fungal Conservation was formed in August 2010. Symposia on fungal conservation have now been held during several national and regional conferences and the 3rd International Congress on Fungal Conservation took place in Turkey in

November 2013. Most recently, protocols and assumptions for globally red listing various groups of fungi were revised during a workshop held in Sweden in which the conservation status of a significant number of fungi were assessed and proposed for inclusion on the IUCN Global Red List.

These are all important steps, but much more is needed to coordinate this growing awareness and interest, and to provide a program for interested mycologists to contribute to conservation efforts. To this end, the five IUCN SSC Fungal Specialist Groups, with the collaboration of the IUCN SSC office and Red List Unit and funding from the Mohamed bin Zayed Species Conservation Fund, have developed the "Global Fungal Red List Initiative." The goal is to include global representation of fungi from all major taxonomic groups in the initiative. We aim for a couple of hundred species. The results of this initiative will highlight that fungi are in need of conservation and that they can be, and need to be, part of the broader conservation agenda.

The initiative aims to raise the awareness of fungal conservation among mycologists, the conservation community, policy makers and the general public. It will serve as forum to educate, inspire, and engage the mycological community. The work will also identify knowledge gaps that impede fungal red listing, integrate fungi into general conservation initiatives, open up funding opportunities to address listed fungal species

Many challenges remain before fungi become fully integrated into conservation initiatives nationally and globally. Gaps in our knowledge of fungal diversity, distributions, phenology, and responses to threats will continue to pose significant challenges to fungal conservation initiatives for the foreseeable future, but we now have sufficient knowledge on a increasing number of species to enable fungi and mycologists to play a larger role in regional, national, and global fungal conservation activities.

Problemy nauczania mykologii na uniwersyteckich studiach przyrodniczych

Wiesław Mułenko

Zakład Botaniki i Mykologii UMCS, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin
wieslaw.mulenko@poczta.umcs.lublin.pl

Grzyby niemal od zawsze wzbudzały zainteresowanie, a ich rola, zwłaszcza negatywna, dokumentowana była już w czasach starożytnych. Powstanie mykologii jako nauki o grzybach datuje się natomiast dopiero na koniec XVIII wieku. W połowie XIX stulecia z mykologii wyodrębniła się fitopatologia, obecnie natomiast, równie intensywnie rozwija się mykologia lekarska oraz przemysłowa. Grzyby są też przedmiotem badań wielu innych specjalistycznych dyscyplin naukowych, np. biochemii, genetyki, mikrobiologii, immunologii, biotechnologii, ewolucjonizmu, natomiast wiedza o nich ma praktyczne zastosowanie w leśnictwie, ochronie przyrody czy rolnictwie. Grzyby różnią się pod wieloma względami od innych grup organizmów, a jednocześnie posiadają wiele cech właściwych tylko sobie. W obecnych systemach klasyfikowane są jako niezależna jednostka

taksonomiczna, równorzędna roślinom i zwierzętom. W środowisku natomiast pełnią rolę głównych destruentów materii organicznej.

Z powyższych powodów, zarówno wiedza o samych grzybach, jak też o ich roli i znaczeniu powinna być przekazywana w ramach niezależnego przedmiotu, równorzędnego botanice i zoologii, które obligatoryjnie obowiązują na pierwszych latach studiów. Polskie programy nauczania biologii nie są jednak kompatybilne. Wiedza o grzybach przekazywana jest już w szkołach podstawowych, natomiast w gimnazjach i w szkołach średnich grzyby traktowane są jako jednostka równorzędna bakteriom, roślinom i zwierzętom. Niestety, w programach uniwersyteckich nie znajdujemy już kontynuacji tego układu. Co gorsze, mykologia wciąż jeszcze jest tu traktowana jako dział botaniki, a brak informacji stwierdzamy nawet w treściach specjalistycznego przedmiotu, jakim jest „biologia komórki” (cytologia). W chwili obecnej, mykologia jako przedmiot nauczania jest prowadzona w jednostkach, w których zatrudnieni są specjaliści. Niestety, to także nie jest regułą.

Przyczyn takiego stanu rzeczy upatruje się m.in. w bardzo długim okresie traktowania grzybów jako heterotroficznych roślin, silnym powiązaniu obu grup, bardzo zawężonym zakresie oddziaływania niewielkiej grupy mykologów na środowisko akademickie, tendencji do specjalizacji uniwersyteckich programów nauczania, braku podręczników do nauczania tego przedmiotu, a jednocześnie dość silnym zróżnicowaniu zakresu oraz formy nauczania.

Problems in teaching mycology at university courses of life sciences

Wiesław Mułenko

Department of Botany and Mycology, Maria Curie-Skłodowska University
19 Akademicka St., PL-20-033 Lublin;
wieslaw.mulenko@poczta.umcs.lublin.pl

Fungi have always attracted interest and their role, particularly negative one, was already described in ancient times. Establishment of mycology as a scientific discipline dates back to the end of the 18th century. In the mid-19th century, phytopathology evolved from mycology and currently medical and industrial mycology are intensively developing sciences. Fungi are the subject of research of many other specialized disciplines, e.g. biochemistry, genetics, microbiology, immunology, biotechnology, and evolutionism, and the knowledge about fungi has practical applications in forestry, nature conservation, and agriculture. Fungi differ from other groups of organisms in many respects and exhibit multiple specific traits. In current systems, they are classified as an independent taxonomic unit on a par with plants and animals. In the natural environment, they fulfil the role of destruent of organic matter.

Given the above arguments, it is evident that both the knowledge about fungi themselves and their role and importance should be disseminated under an independent subject likewise botany and zoology, which are obligatory courses in the curriculum of the first years of study. However, Polish curricula

for biology are not compatible. Mycological knowledge is introduced in primary schools and they are regarded as a unit equal to bacteria, plants, and animals in junior secondary and secondary schools. Unfortunately, the university curricula do not provide a continuation of the system. Even worse, mycology is still regarded as part of botany and there is no information in the contents of such a specialized course as "cell biology" (cytology). Currently, mycology is only taught in units, where expert mycologists are employed, although this is not a rule.

The causes of this state of affairs can be found in e.g. the fact that fungi have long been regarded as heterotrophic plants and both groups have been considered as strongly related. Additionally, the influence of the relatively small group of mycologists on the academic community has been highly limited. There is also a clear trend towards specialization in university curricula accompanied by lack of textbooks indispensable for teaching the course. Simultaneously, the range and form of teaching are considerably diversified.

Analiza pochodnych indolu w ekstrakcie metanolowym z kultur *in vitro*

***Agaricus bisporus* na podłożu płynnym Oddoux**

Bożena Muszyńska*, Katarzyna Sułkowska-Ziaja, Patrycja Hałaszk,

Remigiusz Krężałek i Maciej Łojewski

Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński, ul. Medyczna 9, Kraków 30-688, Poland,

*e-mail: muchon@poczta.fm

Lecnicze i przeciwutleniające właściwości grzybów są doskonałym połączeniem, które stanowi o ich wartości dietetycznej i umożliwia korzystanie z nich zarówno, jako żywności jak i dodatku żywieniowego. Celem niniejszej pracy była analiza zawartości fizjologicznie aktywnych związków indolowych w mycelium z kultur *in vitro* *Agaricus bisporus* (pieczarka dwuzarodnikowa). L-tryptofan egzogeny aminokwas i jego pochodne takie jak np. 5-hydroksytryptofan muszą być dostarczane z pokarmem w codziennej diecie. Związki te mają działanie przeciwdepresyjne, są bezpośrednimi prekursorami serotoniny, a w przeciwieństwie do niej przekraczają barierę krwi - mózgu. Są też biogenetycznymi prekursorami innych związków indolowych, które pełnią funkcję neuroprzekaźników, co uzasadnia oznaczanie ich zawartości w grzybach jadalnych. Materiał do badań stanowiły owocniki *A. bisporus* pochodzenia komercyjnego. Z owocników *A. bisporus* wyprowadzono kultury *in vitro* na stałym podłożu stałym Oddoux. Eksperymentalne kultury *in vitro* prowadzono na płynnym, wytrząsanym podłożu Oddoux. Co dwa tygodnie prowadzenia kultur pasażowano je na świeżą pożywkę. Biomase mrożono i suszono metodą liofilizacji. Otrzymaną biomase z kultur *in vitro* analizowano jakościowo i ilościowo metodą HPLC na obecność nie halucynogennych związków.

ków indolowych. Po raz pierwszy zidentyfikowane i ilościowo oznaczone zostały związki indolowe w kulturach *in vitro* *Agaricus bisporus* na płynnym podłożu wg Oddoux. Analiza wykazała, że ekstrakty metanolowe otrzymane z grzybni *A. bisporus* zawierają sześć związków indolowych: L-tryptofan, 5-hydroksytryptofan, serotoninę, melatoninę, tryptaminę i 5-metylotryptofan. Zawartości poszczególnych składników w biomacie z kultur *in vitro* były różnicowane w zakresie od 0,01 do 21,33 mg/100 g s. m. Dominującym ilościowo związkami były: 5-hydroksytryptofan (12,50 mg/100 g s. m.), L-tryptofan (14,00 mg/100 g) i serotonina (7,00 mg/100 g). Całkowita zawartość związków indolowych w badanym materiale wynosiła 55,32 mg/100 g s. m. Biomasa z kultur *in vitro* badanego gatunku jest dobrym źródłem 5-hydroksytryptofanu i L-tryptofanu. Kultury *in vitro* *A. bisporus* mogą być wykorzystane, jako model do badań nad akumulacją i metabolizmem związków indolowych.

Analysis of indole derivatives in methanolic extracts from mycelium of *Agaricus bisporus* cultured *in vitro* on liquid Oddoux medium

Bożena Muszyńska*, Katarzyna Sułkowska-Ziaja, Patrycja Hałaszk,
Remigiusz Krężałek & Maciej Łojewski

Department of Pharmaceutical Botany, Jagiellonian University, Collegium
Medicum, 9 Medyczna Str., 30-688 Kraków, Poland, *e-mail:
muchon@poczta.fm

Methanolic extracts obtained from biomass of *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach cultured *in vitro* were analyzed for qualitative and quantitative composition of non-hallucinogenic indole compounds and to compare their amount with fruiting bodies of these species. The extracts were shown to contain six indole compounds. Contents of individual compounds were diverse ranging from 0.01 to 21.33 mg/100 g d.w. in biomass from *in vitro* cultures. The quantitatively dominating compounds included: 5-hydroxytryptophan (12.50 mg/100 g d.w.), L-tryptophan (14.00 mg/100 g d.w.) and serotonin (7.00 mg/100 g d.w.). The total content of the remaining indole compounds under analysis in the study material was 55.32 mg/100 g d.w.

Właściwości prozdrowotne grzybów jadalnych

Bożena Muszyńska*, Katarzyna Sułkowska-Ziaja
Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny Collegium
Medicum, Uniwersytet Jagielloński
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków; *muchon@poczta.fm

Grzyby odgrywają istotną rolę zarówno w przyrodzie, jak i gospodarce człowieka. W wielu krajach zbieranie dziko rosnących grzybów w celach

konsumpcyjnych jest zwyczajem i jest tak przede wszystkim w krajach Europy Wschodniej. W Czechach średnie spożycie jadalnych grzybów wynosi ponad 10 kg świeżych grzybów na statystycznego mieszkańca rocznie. Wielkość spożycia uzależniona jest od miejsca - w regionach występowania dużych obszarów leśnych jest ono wyższe. Zawartość wody w owocnikach grzybów waha się od 70 % do 95 %. Susz grzybowy zawiera od 3 % do 25 % przyswajalnych białek, do 5 % węglowodanów, 0,5 %-3,5 % tłuszczu (w postaci oleju zawierającego kwasy tłuszczowe nienasycone i nasycone), a także witaminy (B₁, B₂, B₆, H, PP, E, D) i prowitaminę witaminy A – β-karoten, liczne pierwiastki (m. in. chrom, cynk, fosfor, kobalt, magnez, mangan, miedź, nikiel, potas, sód, srebro, wapń, selen, żelazo) oraz enzymy i chitynę (zaliczaną w skład błonnika pokarmowego). Bardzo korzystna jest obecność w owocnikach grzybów enzymów. Nawet w małych ilościach pobudzają one apetyt, ułatwiają trawienie i przyswajanie pokarmu. Wiele badań pozwoliło udowodnić, że kompozycja wolnych i związanych aminokwasów występujących w grzybach jest porównywalna do występujących w proteinach zwierzęcych, co jest ważne dla ludzkiej diety, zwłaszcza odkąd pojawia się coraz więcej chorób, których przyczyną jest spożywanie mięsa ssaków. Innymi grupami szerzej zbadanych związków są również liczne związki fenolowe, terpenowe, indolowe, witaminy, biopierwiastki (np. selen) o działaniu antyoksydacyjnym. Biologicznie i leczniczo aktywne metabolity grzybów są używane w terapii tak poważnych schorzeń jak np. choroby krążenia, cukrzyca, miażdżyca, choroby nowotworowe, dysfunkcje organizmu wywołane przez wolne rodniki. Niektóre z metabolitów wykazują działanie: hipoglikemiczne, przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne oraz przeciwrakowe. W konwencjonalnej medycynie, w leczeniu onkologicznym najdłużej stosowane są polisacharydy grzybowe, stąd są one najlepiej poznanymi metabolitami z szeregu innych występujących w grzybach związków. Grzyby jadalne są też wtórnych metabolitów o właściwościach dietetycznych i leczniczych jak np.: immunostymulujących (glikoproteiny, seskwiterpenoidy, triterpenoidy), przeciwmiażdżycowych (chityna, chitosany, statyny), przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych (antybiotyki) oraz antyoksydacyjnych (steroli, tokoferoli, flawonoidów, karotenoidów, związków indolowych czy też związków fenolowych). Działanie lecznicze i antyoksydacyjne grzybów jadalnych stanowi znakomitą kombinację z ich wartością żywieniową. Wolne rodniki są istotnym czynnikiem wywołującym wiele patologicznych procesów w organizmie człowieka. Mogą uszkadzać błony komórkowe, białka, enzymy oraz DNA zwiększając ryzyko takich chorób jak: choroba Parkinsona, Alzheimer, astma, cukrzyca, miażdżyca, choroby degeneracyjne oczu, przewlekłe stany zapalne, choroby neurodegeneracyjne i niektóre rodzaje raka. Związki występujące w owocnikach grzybów jadalnych o znaczeniu prewencyjnym przeciw chorobom wywołanym przez wolne rodniki, w porządku według aktywności antyoksydacyjnej to: związki fenolowe > flawonoidy > kwas askorbinowy > tokoferole > karotenoidy > związki indolowe. Grzyby jadalne są cennym źródłem fizjologicznie aktywnych, niehalucynogennych związków indolowych, zwłaszcza prekursorów pochodnych indolowych, posiadających działanie antydepresyjne i

antyoksydacyjne jak L-tryptofan, 5-hydroksytryptofan, tryptamina, serotoninina i melatoninina.

Health-promoting properties of edible mushrooms

Bożena Muszyńska*, Katarzyna Sułkowska-Ziaja

Department of Pharmaceutical Botany

Jagiellonian University, Collegium Medicum

9 Medyczna St., PL-30-688 Kraków; *muchon@poczta.fm

Mushrooms are a large group of organisms playing significant role in the environment. Nowadays, cultivated and wild edible mushrooms, used directly or indirectly as food or ingredients, have been clearly separated from medical mushrooms by the industry. In numerous countries, picking wild grown mushrooms is a habitual activity. It should be remembered, that edible mushrooms constitute increasing fraction of our diet, and for example in the Czech Republic statistically each person consumes over 10 kg of fresh mushrooms per year. Owing to their attractive taste, aroma and nutritional values, edible mushrooms are valuable components of the diet, whose culinary and commercial quality is mainly due to their organoleptic properties such as their texture and flavor, being possible to distinguish edible mushroom species on the basis of their characteristic odor or aroma. Mushrooms are a source of both primary and secondary metabolites. What's more, they are a good source of essential nutrients: protein, carbohydrates, vitamins, especially vitamins B₁ and B₂, vitamin D, A, C, E, H, K and PP, and pantothenic acid. The content of vitamins in mushrooms is often much higher than most vegetables. Fat content is low within the limits of 5-8 %, and in most species less than 1% and only a few to 15 %. Dried mushrooms contain 3-25 % digestible protein, and 5 % carbohydrate, 0.5-3.5 % fat and enzymes to help digestion. The medicinal use of mushroom polysaccharides has a very long tradition. Fruiting bodies of mushrooms are a known source of a variety of biologically active compounds. Biologically and therapeutically active secondary metabolites of mushrooms are used to treat such serious diseases as cardiovascular diseases, diabetes, atherosclerosis and cancer. Some of the metabolites exhibit antiviral and antibacterial activity. The best known fungal group of active compounds are polysaccharides used for anticancer therapy. Other widely studied groups of compounds contained in mushrooms are different antioxidant compounds such as the polysaccharides, ergosterol, nicotinic acid, terpenoids, phenolic compounds, ergothioneine, statins, carotenoids, vitamins and bioelements (e.g. selenium). Medicinal and antioxidant properties of mushrooms are an excellent combination of their dietary value. As it is known, free radicals are important factors causing many pathological processes and are responsible for the development of many civilization diseases. They may cause the damage of the cell membranes, proteins, enzymes, DNA and therefore increase the risk of such diseases as Parkinson's, Alzheimer's, angiocardopathies, asthma, diabetes and others. The compounds existed in the edible mushrooms can be ordered according to their antioxidant activity against free radicals as follows: phenolic compounds > flavonoids > ascorbic acid > tocopherols > carotenoids > indole

compounds. The consumption of dietary antioxidants could be important in the prevention of cardiovascular diseases and there is evidence that the oxidative modification of LDL (lipids or protein components) play a crucial role in atherogenesis. The antioxidant and antiinflammatory compounds occurring on mushrooms also may contribute to reduce the atherosclerosis risk. Recent studies have evidenced that edible mushroom species contain non-hallucinogenic indole compounds and their derivatives. The indole skeleton is the base of the substances serving important functions in the human body, such as L- tryptophan, serotonin and melatonin. These compounds fulfill the role of neurotransmitters or their precursors, exhibit antioxidant, anticancer, anti-aging activity, regulate the diurnal cycle in humans and participate in blood coagulation. These compounds and their derivatives are also anti-inflammatory and analgesic therapeutics.

Kalač P. 2010. Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000-2009. *Food Chem*, 122: 2-15.

Muszyńska B., Sułkowska-Ziaja K., Ekiert H. 2011. Właściwości lecznicze i dietetyczne wybranych jadalnych grzybów wielkoowocnikowych. *Farmacja Polska*, 67 (8): 551-560.

Muszyńska B., Sułkowska-Ziaja K., Łojewski M., Opoka W., Zając M., Rojowski J. 2013. Edible Mushrooms in Prophylactic and Treatment of Human Diseases. *Medicina Internacia Revuo*, 25 (4): 61-75.

Muszyńska B., Sułkowska-Ziaja K., Malec M. 2012. Związki o działaniu antyoksydacyjnym występujące w jadalnych i leczniczych gatunkach grzybów (Basidiomycota). *Farmacja Polska*, 68 (9): 629-639.

Muszyńska B., Sułkowska-Ziaja K., Ekiert H. 2011. Indole compounds in edible *Basidiomycota* species: *Boletus edulis* (Bull. ex Fr.), *Suillus luteus* (L. ex Fr.) and *Pleurotus ostreatus* (Jacq.ex Fr.) Kumm. *Int J Med Mushrooms*, 13: 449-454.

Detekcja reaktywnych form tlenu oraz ocena aktywności enzymów antyoksydacyjnych u *Paecilomyces marquandii* w odpowiedzi na stres wywołany obecnością metali ciężkich

Justyna Nykiel^{1,2}, Mirosława Słaba¹, Sylwia Różalska¹, Jerzy Długoński¹

¹Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

²Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Wstęp. Grzyb strzępkowy *P. marquandii* został wyizolowany z silnie skażonych obszarów przemysłowych wokół Huty Metali Nieżelaznych „Szopienice” w Katowicach. Wcześniej prowadzone badania w KMBiP UŁ wykazały, iż grzyb ten charakteryzuje się tolerancją w stosunku do wysokich stężeń metali ciężkich. Jednym z mechanizmów toksyczności metali jest indukcja stresu oksydacyjnego poprzez nasilenie produkcji reaktywnych form tlenu (RFT), powodujących uszkodzenia białek, peroksydację lipidów czy

zmiany w strukturze DNA. W odpowiedzi na stres oksydacyjny organizmy wytwarzają związki o charakterze antyoksydantów m.in. enzymy antyoksydacyjne. Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza askorbinianowa (APX) i peroksydaza gwajakolowa (POD) należą do grupy enzymów o potwierdzonym znaczeniu w ochronie przeciwko oksydacyjnemu stresowi u grzybów strzępkowych.

Cel. Praca miała na celu wykrycie reaktywnych form tlenu (O_2^- , H_2O_2 , NO) oraz określenie wpływu metali ciężkich na aktywność enzymów antyoksydacyjnych w grzybnii *P. marquandii*.

Materiał i metody. Płynne hodowle *P. marquandii* z dodatkiem metali ciężkich, hamujących wzrost o ok. 50%, inkubowano w temp. 28°C na wytrząsarce obrotowej (160 rpm). RFT były wykrywane w strzępkach z wykorzystaniem metody mikroskopowej. Pomiar aktywności CAT, SOD, APX i POD wykonywano spektrofotometrycznie w supernatancie uzyskanym po wirowaniu zhomogenizowanej grzybnii.

Wyniki. W obrazach uzyskanych za pomocą mikroskopu konfokalnego zaobserwowano wzmożoną produkcję reaktywnych form tlenu w grzybnii *P. marquandii* poddanej działaniu metali ciężkich. Ponadto metale ciężkie wywoływały zmiany w aktywności enzymów systemu antyoksydacyjnego u badanego grzyba strzępkowego. Zaobserwowano zmiany w działaniu CAT, SOD, APX i POD w zależności od czasu ekspozycji na toksyczne substancje. Dla większości hodowli indukcja następowała po dłuższym niż 24 h kontakcie z metalem. Największe zmiany w aktywności enzymów odnotowano dla grzybnii poddanej działaniu niklu. Natomiast cynk był metalem wpływającym w najmniejszym stopniu na antyoksydacyjną aktywność enzymatyczną badanego szczepu.

Wnioski. Metale ciężkie indukują powstawanie RFT u badanego szczepu. Ponadto wyniki oceny aktywności enzymów antyoksydacyjnych świadczą o aktywnej odpowiedzi systemu antyoksydacyjnego, co może mieć znaczenie w wysokiej tolerancji *P. marquandii* na działanie toksycznych metali.

Detection of reactive oxygen species and elevation of antioxidant enzymes activity in filamentous fungus *Paecilomyces marquandii* exposed to heavy metals

Justyna Nykiel^{1,2}, Mirosława Słaba¹, Sylwia Różalska¹, Jerzy Długoński¹

¹Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz
12/16 Banacha St., PL-90-231 Łódź

²Biotechnology and Microbiology Students Society “Bio-Mik”, Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz

Introduction. *P. marquandii* was isolated from polluted industrial areas surrounding Non-Ferrous Metal Works ‘Szopienice’ (Katowice, Poland). The earlier study carried out in KMPiB showed that the fungus is tolerant to high concentrations of heavy metals. Metals have the ability to induce oxidative

stress by enhanced production of reactive oxygen species (ROS) that can cause damage to proteins, lipid peroxidation, changes in the DNA structure. In response to the oxidative stress organisms produce antioxidant compounds e.g. antioxidant enzymes. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and guaiacol peroxidase (POD) belong to the group of enzymes of significance confirmed in protecting against oxidative stress in filamentous fungi.

Aim. The aim of the study was to detect reactive oxygen species ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , NO) and to determine the effect of heavy metals on antioxidant enzymes activities in *P. marquandii* strain.

Material and methods. Liquid cultures of *P. marquandii* with the addition of heavy metals were incubated on a rotary shaker at 28°C. ROS were detected in hyphae using a microscopic method. Measurement of the CAT, SOD, APX and POD activity was performed in the supernatant obtained after centrifugation of the homogenized mycelia.

Results. In the microscopic images the presence of reactive oxygen species in the *P. marquandii* mycelium exposed to heavy metals was observed. Heavy metals caused changes in antioxidant enzyme activity in the tested filamentous fungus. The changes observed in CAT, SOD, APX and POD action depended on the time of exposure to toxic substances. For most of the cultures the induction occurred after more than 24 h of contact with the metal. The biggest changes in enzyme activity were observed for the mycelium exposed to nickel. In contrast, zinc was a metal which caused the weakest induction of the antioxidant enzyme activity of the tested strain.

Conclusions. Examined heavy metals induce ROS formation in the tested strain. Furthermore, the results obtained from the measurement of antioxidant enzymes indicate active response of the *P. marquandii* antioxidant system to toxic substances, which may be important for high tolerance of *P. marquandii* to toxic metals.

This study was supported by the National Centre for Science in Cracow, Poland (Project No. UMO-2011/01/B/NZ9/02898).

Wykorzystanie źródeł fosforu i siarki przez szczep *Trichoderma* wyizolowany z osadu ścieków mleczarskich, przy użyciu mikromacierzy fenotypowych (PM)

Karolina Oszust*, Magdalena Frąc**, Agata Gryta, Nina Bilińska
Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk
ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27

tel.: 81 744 50 61, *koszust@ipan.lublin.pl, **m.frac@ipan.lublin.pl

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* są jednym z głównych źródeł przemysłowej celulazy i hemicelulazy, enzymów wykorzystywanych do hydrolizy złożonych związków do cukrów prostych, które mogą być następnie przekształcone w inne związki chemiczne. Wiadomo, że pewne substancje obecne w podłożu hodowlanym mogą działać jak silne induktory bądź inhibitory aktywności. W związku z tym wykorzystano mikromacierze fenotypowe (PM), w celu

wskazania potencjalnych źródeł fosforu i siarki, które mogą odgrywać kluczową rolę w optymalizacji warunków hodowli, optymalizacji sporulacji i kiełkowania lub nawet w optymalizacji produkcji drugorzędowych metabolitów przez grzyby czy poszukiwaniu nowych substancji czynnych, takich jak np. enzymy.

System mikromacierzy fenotypowych charakteryzuje aktywność fizjologiczną mikroorganizmów. W prezentowanych badaniach wykorzystano płytkę PM4 do pozyskania informacji na temat wykorzystania związków fosforu (59 różnych źródeł) i siarki (35 różnych źródeł) przez szczep *Trichoderma* G79/11.

Szczep G79/11 wyizolowano z osadu ścieków mleczarskich w Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej, IA PAN. Na podstawie sekwencjonowania fragmentu genu dużej podjednostki rybosomalnej G79/11 zidentyfikowano go jako *Trichoderma atroviride*. Szczep ten hodowano na pożywce z celulozą przez 14 dni w temperaturze 27°C. Następnie zgodnie z procedurą PM Biolog dla grzybów nitkowatych przygotowano homogeniczną zawiesinę zarodników (62% T) w sterylnym płynie inokulacyjnym – FF z dodatkiem D-glukozy. Po 100 µl zawiesiny wprowadzono do każdego dołka płytki PM4, a następnie płytkę inkubowano w temperaturze 27°C w systemie OmniLog.

Badania wykazały, że najchętniej wykorzystywane przez G79/11 źródła fosforu, znajdujące się na PM4 to: 2',3'- monocykliczny fosforan adenozy, w stosunku do którego zanotowano o 12,7% większą aktywność badanego szczepu, w porównaniu do kontroli; fosfoenolopirogronian (wzrost aktywności o 3,6%) i fosfotyrozyna (wzrost aktywności o 15,8%). Z drugiej strony obecność związków, takich jak azotan (V) mocznika, D-seryna, D-glukozamina spowodowała całkowite zahamowanie aktywności G79/11. Pozostałe związki fosforu nie wykazały wpływu na aktywność szczepu G79/11. Jeśli chodzi o źródła siarki, to żaden związek całkowicie nie zahamował aktywności G79/11. Jedynie tiosiarczan, tetrationian, tiofosforan, tauryna i jej pochodne. D,L-lipoamid oraz pochodne sulfonu hamowały aktywność szczepu G79/11 maksymalnie w 50%. Obecność substratów, takich jak: pochodne metioniny, glutation, lantionina czy cystationina spowodowały 35% wzrost aktywności badanego szczepu.

Phosphorus and sulphur sources utilization by *Trichoderma* strain isolated from dairy sewage sludge, using phenotype microarray (PM)

Karolina Oszust*, Magdalena Frąc**, Agata Gryta, Nina Bilińska

Institute of Agrophysics of Polish Academy of Sciences

4 Doświadczalna St., PL-20-290 Lublin 27

phone: 81 744 50 61, *koszust@ipan.lublin.pl **m.frac@ipan.lublin.pl

Fungi belonging to the genus *Trichoderma* are one of the main source of industrial cellulases and hemicellulases harnessed for the hydrolysis of complex compounds to simple sugars, which can then be converted to other chemicals. It is known that nutrient profiling can reveal potent inducers.

Therefore we used the phenotype microarray system (PM), to indicate sources that may potentially play a key role in optimization of culture its conditions, optimization of the sporulation and germination, or even optimization of the production of secondary metabolites those filamentous fungi, search for new active substances, such as enzymes.

The phenotype microarray system describes the total physiological activity of microorganisms. PM4 plate was used to collect information about global phosphorus (59 different sources) and sulphuric compounds (35 different sources) utilization profiles of G79/11 strain.

G79/11 strain was isolated in Laboratory of Molecular and Environmental Microbiology, IA PAS from dairy sewage sludge and identified as *Trichoderma atroviride* upon large subunit ribosomal RNA gene partial sequence. *T. atroviride* strain was cultured on medium with cellulose for 14 days at 27°C. Subsequently 100 µl of mechanically homogenized spore suspension (62% T) in sterile FF-inoculating fluid with supplement added, (D-glucose) was inoculated into (PM4) (prepared according to Biolog® PM procedure for filamentous fungi) and incubated at 27°C in OmniLog System. The Phenotype MicroArray (PM) software was used to analyzed the PM results.

The most consumed phosphorus sources, located on PM4, were as follows: Adenine 2',3'-Cyclic Monophosphate, which was utilized at 12.7% higher level, Phosphoenol Pyruvate (activity greater of 3.6%) and O-Phospho-D-Tyrosine (15.8%). On the other hand presence of Nitrate Biuret, D-Serine, D-Glucosamine caused total inhibition of G79/11 activity. The rest of substrates did not reveal any differences in G79/11 activity comparing to the control well. As far as sulphuric sources, none of them caused complete inhibition of G79/11 activity. However, among others Sulfate, Thiosulphate, Tetrathionate, Thiophosphate, Taurine and Taurine-related substances, D,L Lipoamide, Sulphone-related substances caused even 50% of activity inhibition. On the contrary, presence of Methionine-related substrates, Glutathione, Lanthionine, and Cystathionine revealed up to 35% greater activity.

Oznaczenie markerów stresu oksydacyjnego u *Metarhizium robertsii* w obecności nonylofenolu

Anna Pawlak¹, Sandra Frączak¹, Sylwia Różalska², Jerzy Długoński²

¹Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

²Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Wstęp. Nonylofenole (NPs) są to ksenobiotyki zbudowane z pierścienia fenolowego, do którego w pozycji *para* przyłączony jest dziewięciowęglowy łańcuch alkilowy. Związki te pochodzą z rozpadu niejonowych surfaktantów – etoksylatów nonylofenoli, które przedostają się głównie do wód powierzchniowych i gleby. Zarówno NPs, jak i ich etoksylaty, produkowane są na szeroką skalę i powszechnie stosowane jako detergenty, emulgatory oraz środki

dyspersyjne. Są one zaliczane do modulatorów hormonalnych i mogą wiązać się z receptorami endogennych hormonów i imitować ich działanie, stymulując rozwój nowotworów hormonozależnych. NPs mogą być degradowane przez grzyby strzępkowe, ale jak do tej pory nie poznano mechanizmów obronnych tych organizmów w odpowiedzi na stres spowodowany obecnością tych związków.

Cel pracy. Oznaczenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych w komórkach *M. robertsii*, inkubowanych z dodatkiem technicznego nonylofenolu (tNP).

Materiały i metody. Hodowle grzybów strzępkowych *M. robertsii* z tNP w stężeniu 25 i 50 mg/L oraz kontrolę biotyczną inkubowano przez 1 i 3 h w temperaturze 28°C. Następnie hodowle sączono, a otrzymaną biomasę ucierano z dodatkiem 0,05 M buforu fosforanowego pH = 7. Zawiesinę wirowano, a uzyskany supernatant umieszczono w łaźni lodowej. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych w komórkach grzybów w obecności i nieobecności tNP oznaczano spektrofotometrycznie, dodając do supernatantu 0,05 M bufor fosforanowy pH = 7 i 1% nadtlenek wodoru (oznaczanie aktywności katalazy, CAT), 0,05 M buforu fosforanowego pH=7,8, zawierającego metioninę, NBT i EDTA, oraz ryboflawinę (oznaczanie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, SOD), 0,05 M buforu octanowego pH = 5,6, 5,4 mM gwajakolu i 1 % nadtlenek wodoru (oznaczanie aktywności peroksydazy gwajakolowej, POD).

Wyniki. Aktywność katalazy szczepu *M. robertsii* IM 6511 wahała się między 3 a 11 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}/\text{lg}$ białka i rosła wraz ze wzrostem stężenia NPs w podłożu, natomiast malała wraz z czasem ekspozycji grzybni na ksenobiotyki. Zaobserwowano, że aktywność CAT dla szczepu *M. robertsii* IM 6519 utrzymywała się na stałym poziomie we wszystkich próbach i wynosiła ok. 3 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}/\text{lg}$ białka. Wszystkie badane szczepy *M. robertsii* wykazały aktywność enzymatyczną SOD, z czego najwyższe wartości zanotowano dla szczepu IM 6511 – 1,5 $\text{mmol}/\text{min}/\text{ml}/\text{lg}$ białka. Wartości te rosły wraz ze wzrostem stężenia NPs. Dla pozostałych szczepów wartości nie przekraczały 1 $\text{mmol}/\text{min}/\text{ml}/\text{lg}$ białka, jednak również rosły proporcjonalnie do zawartości ksenobiotyku w podłożu. Po 1 h inkubacji POD najefektywniej wytwarzana była w próbach z dodatkiem NPs przez szczep IM 6519, a jej aktywność wynosiła 200 $\text{nmol}/\text{min}/\text{ml}/\text{lg}$ białka, natomiast po 3 h oba badane szczepy, IM 6519 i IM 2358, wykazywały zbliżone wartości aktywności badanego enzymu.

Wnioski. Przebadane szczepy *M. robertsii* wykazują różną aktywność badanych enzymów antyoksydacyjnych. Szczep *M. robertsii* IM 6511 wykazuje wysoką aktywność SOD i CAT, w stosunku do prób bez dodatku NP, natomiast wartości otrzymane dla POD były niskie. Szczepy *M. robertsii* IM 2358 oraz IM 6519 wykazują natomiast mniejszą aktywność enzymatyczną w przeprowadzonych badaniach.

Markers of oxidative stress in *Metarhizium robertsii* in the presence of nonylphenol

Anna Pawlak¹, Sandra Frączak¹, Sylwia Różalska², Jerzy Długoński²

¹Biotechnology and Microbiology Students Society “Bio-Mik”, Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz

²Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, 12/16 Banacha St., PL-90-231 Łódź

Introduction. Nonylphenols (NPs) are xenobiotics that are composed of a phenol ring with an attached nine-carbon alkyl chain at the para position. These compounds, are derived from the disintegration of non-ionic surfactants – nonylphenol ethoxylates, which enter surface waters and soil. Both NPs and their ethoxylates are produced on a large scale, and widely used as detergents, emulsifiers and dispersing agents. They are classified as hormone modulators and can bind to receptors of endogenous hormones and mimic their effect, stimulating the development of hormone-dependent tumors. NPs can be degraded by filamentous fungi, but so far their defense mechanisms in response to stress caused by the presence of xenobiotics have not been recognized.

Study objective. Determination of the activity of antioxidant enzymes in the cells of *M. robertsii* incubated with the addition of technical nonylphenol (tNP).

Materials and methods. Filamentous fungi cultures of *M. robertsii* with tNP at the concentration of 25 and 50 mg / L and biotic control were incubated at 28°C for 1 and 3h. The cultures were then filtered and the obtained biomass was triturated with 0.05 M phosphate buffer, pH 7. The suspension was centrifuged and the obtained supernatant was placed in an ice bath. The activity of antioxidant enzymes in the cells of fungi in the presence and absence of tNP was determined spectrophotometrically, adding to the supernatant 0.05 M phosphate buffer pH = 7 and 1% hydrogen peroxide (catalase activity assay, CAT), 0.05 M phosphate buffer pH = 7.8, containing methionine, NBT and EDTA, and riboflavin (superoxide dismutase activity assay, SOD), 0.05 M acetate buffer pH 5.6, 5.4 mM guaiacol and 1% hydrogen peroxide (guaiacol peroxidase activity assay, POD).

Results. The activity of the catalase *M. robertsii* IM 6511 ranged between 3 and 11 $\mu\text{mol}/1\text{min}/1\text{ml}/1\text{g}$ protein and increased with rising concentrations of NPs in the medium, but decreased with time of mycelium exposure to the xenobiotic. It was observed that the activity of CAT for the strain *M. robertsii* IM 6519 remained constant in all samples and was approximately 3 $\mu\text{mol}/1\text{min}/1\text{ml}/1\text{g}$ protein. All tested strains of *M. robertsii* showed SOD enzyme activity, with the highest values observed for strain 6511 IM – 1.5 $\text{mmol}/1\text{min}/1\text{ml}/1\text{g}$ protein. These values increased with the rising concentrations of NPs. For the remaining strains they did not exceed 1 $\text{mmol}/1\text{min}/1\text{ml}/1\text{g}$ protein. After 1 h incubation POD was produced by IM 6519 most efficiently in the trials with the addition of NPs, and its activity was 200 $\text{nmol}/1\text{min}/1\text{ml}/1\text{g}$ protein, whereas after 3 h, both strains tested, IM 6519

and IM 2358 , showed similar values of the enzyme activity.

Conclusions. The tested strains of *M. robertsii* had different activity of antioxidant enzymes. Strain *M. robertsii* IM 6511 showed a high activity of SOD and CAT, and values obtained for POD were low. Strains of *M. robertsii* IM 2358 and IM 6519 had lower enzymatic activity.

Przegląd nowych metod stosowanych do identyfikacji pleśniakowców (*Mucorales*)

Julia Pawłowska^{1*}, Mateusz Wilk², Marta Wrzosek¹

¹Zakład Systematyki i Geografii Roślin, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski,
Al. Ujazdowskie 4, 00-478 Warszawa; *julia.pawlowska@biol.uw.edu.pl

²Kolegium Międzywydziałowych Indywidualnych Studiów Matematyczno-
Przyrodniczych, Uniwersytet Warszawski,
ul. Żwirki i Wigury 93, 02-089 Warszawa

Przedstawiciele rzędu *Mucorales* stanowią starą ewolucyjnie grupę grzybów. Chociaż większość jej reprezentantów to saprotrofy, można wśród nich znaleźć także fitopatogeny (np. *Gilbertella persicaria*) oraz grzyby powodujące choroby u ludzi (m.in. *Lichtheimia corymbifera*). Pleśniakowce charakteryzują się szybkim wzrostem, brakiem przegród wewnątrz strzępek oraz wytwarzaniem zygospor w procesie rozmnażania płciowego (Benny 2012). Taksonomia tej grupy grzybów tradycyjnie oparta była o cechy morfologiczne (np. Schipper 1973, 1976). Rozwój technik molekularnych wykazał jednak, że metoda ta jest niewystarczająca. Choć niedawno zaproponowana została nowa struktura rodzin w obrębie rzędu *Mucorales* (Hoffmann et al. 2013), wiele kładów ciągle ma nierozwiązane relacje pokrewieństwa (zwłaszcza w obrębie rodziny *Mucoraceae*). Te grupy wymagają większego próbkowania oraz bardziej szczegółowych analiz w oparciu o kilka markerów molekularnych.

Niezależnie od analiz filogenetycznych, rozwijane są także narzędzia służące po prostu molekularnej identyfikacji pleśniakowców na poziomie gatunkowym. Walther et al. (2013) przeanalizowali sekwencje fragmentu ITS 668 szczepów, reprezentujących 203 taksony pleśniakowców. Fragment ITS rDNA, wybrany jako uniwersalny marker molekularny służący identyfikacji (ang. *barcode*) (Schoch et al. 2012), okazał się dobrze sprawdzać w przypadku większości przedstawicieli rzędu *Mucorales*. W związku z powyższym, sekwencje wszystkich szczepów pochodzących z materiałów typowych otrzymane podczas tych badań zostały także wprowadzone do systemu UNITE (ang. *unified system for the DNA based fungal species*, <http://unite.ut.ee>; Abarenkov et al. 2010), który jest obecnie największą bazą danych grzybowych sekwencji fragmentów ITS przypisanych do konkretnych oznaczeń gatunkowych. Baza ta umożliwia zatem obecnie najprostszą i najbardziej wiarygodną identyfikację gatunkową dowolnej sekwencji ITS, pochodzącej od przedstawicieli rzędu *Mucorales* (Kõljalg et al. 2013, Nilsson et al. 2014).

Warto jednak zaznaczyć, że molekularna identyfikacja na poziomie gatunkowym ciągle pozostaje nieskuteczna w obrębie kilku kompleksów

gatunków, takich jak np. *M. circinelloides* lub *M. flavus*. Wśród przedstawicieli tych grup niejasne bowiem pozostają granice gatunków (Walther et al. 2013). Przez wiele lat do wyznaczania granic pomiędzy gatunkami stosowano testy polegające na krzyżowaniu osobników (np. Schipper 1976). Wiadomo jednak, że niektórzy przedstawiciele pleśniakowców mogą wytwarzać zygosporę także na drodze partenogenezy. Testowanie żywotności uzyskanych zygospor, konieczne do weryfikacji warunków biologicznej koncepcji gatunku, również stawia liczne problemy ze względu na specyficzne i słabo poznane warunki ich kiełkowania. Wreszcie brak znajomości jednokopijnych markerów, umożliwiających obliczenie wiarygodnych drzew filogenetycznych oraz identyfikację granic gatunku w oparciu o tzw. GCPSR (Genealogical Concordance Phylogenetic Species Recognition), wymuszają poszukiwania innych metod wyznaczania granic gatunków w obrębie *Mucorales*. W ostatnich latach stwierdzono, że obecność CBC (*compensatory base changes* – tłum. dosłowne: kompensacyjne zmiany zasad) w obrębie fragmentu ITS2 pozwala w 93,11% stwierdzić czy dwa osobniki należą do jednego gatunku (Müller et al. 2007). Wstępne porównanie wyników analiz CBC z uzyskanymi poprzez krzyżowanie osobników w obrębie kompleksu *Mucor circinelloides* są bardzo obiecujące. Obecność CBC w sekwencjach uzyskanych z niektórych szczepów (np. formy *griseocyanus*) może wskazywać, że drzewa filogenetyczne zbyt słabo wyjaśniają złożone relacje pokrewieństwa pomiędzy gatunkami (Pawłowska et al. 2013). Dla ich zilustrowania spróbowano zatem zastosować sieci filogenetyczne. W tych analizach wszystkie szczepy oznaczone do gatunku lub formy stanowiły dobrze wyodrębnione grupy. Wszystkie miały też wspólnego przodka, choć relacje pomiędzy nimi dalej nie były jasne. Okazało się jednak, że niektóre szczepy reprezentują stadia przejściowe, co potwierdza wyniki analiz CBC oraz wyjaśnia uzyskanie zygospor w przypadku przeprowadzonych krzyżówek. Dla ostatecznej oceny wiarygodności zastosowanych metod konieczne jest jednak ich porównanie z wynikami analiz filogenetycznych, bazujących na wielu markerach molekularnych.

Projekt był finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach grantu NN_303 548 839.

An overview of new tools for species identification of mucoralean fungi

Julia Pawłowska^{1*}, Mateusz Wilk², Marta Wrzosek¹

¹Department of Systematics and Plant Geography
Faculty of Biology, University of Warsaw

4 Ujazdowskie Av., PL-00-478 Warszawa; * julia.pawlowska@biol.uw.edu.pl

²Inter-Faculty Interdisciplinary Doctoral Studies in Natural Sciences and
Mathematics, University of Warsaw

93 Żwirki i Wigury St., PL-02-089 Warszawa

The representatives of the order *Mucorales* form an ancient evolutionary group of Fungi. Although they are mainly soil borne saprotrophs, plant and human pathogens also occur among them (e.g. *Gilbertella persicaria* or

Lichtheimia corymbifera respectively). The mucoralean fungi are characterized by fast growing, non septate mycelium and formation of zygospores in sexual reproduction (Benny 2012). Taxonomy of *Mucorales* was traditionally based on morphology (e.g. Schipper 1973, 1976). However, the development of molecular phylogeny revealed that this method is unsatisfactory. Although new family structure of the *Mucorales* has been proposed by Hoffmann et al. (2013) there are still some clades with unresolved phylogenetic relationships that need further sampling and more detailed multigene studies. This is especially important within family *Mucoraceae*, where several clades remain paraphyletic (e.g. *Thamnidium elegans* turned out to be closely related with the type species of *Mucor* genus, that is *M. mucedo*). Final revision of these clades will probably lead to major name changes within *Mucorales*.

Independently, molecular tools for species identification within *Mucorales* have been developed. Walther et al. (2013) made an analysis of ITS barcodes of 668 strains, representing 203 taxa of mucoralean fungi. The ITS region, that had been proposed as an universal DNA barcode marker for fungi (Schoch et al. 2012), turned out to have enough discriminative power in most cases of *Mucorales* species. Thus sequences of all ex-types of these mucoralean strains have also been annotated in UNITE: unified system for the DNA based fungal species, <http://unite.ut.ee>; Abarenkov et al. 2010), that is currently the largest database of fungal ITS sequences assigned to a species level. It provides now the easiest and the most efficient way to connect any mucoralean ITS rDNA sequence with reliable taxon name (Kõljalg et al. 2013, Nilsson et al. 2014).

Worth noting is the fact that molecular species identification is currently not possible for some species complexes such as *M. circinelloides* or *M. flavus* because of unclear species boundaries within these groups (Walther et al. 2013). For several years the production of zygospores (mating experiments) has been used as a criterion of conspecificity (e.g. Schipper 1976). However, parthenogenic formation of zygospores within *Mucorales* is also well known. Moreover, as species recognition by Genealogical Concordance Phylogenetic Species Recognition (GCPSR) and Biological Species Recognition is difficult to apply (because of the lack of known single-copy markers or to the lengthy period of dormancy of zygospores), the search for alternative methods of species delimitation is still under way. Recently, compensatory base changes (CBCs) in the ITS2 region have been suggested as molecular classifiers for plants, animals and fungi, indicating with 93.11 % reliability whether or not two organisms belong to distinct species (Müller et al. 2007). Preliminary comparison of CBC analysis with mating experiments in *Mucor circinelloides* complex are quite promising. The presence of CBCs in some strains (e.g. from forma *griseocyanus*) might indicate that speciation is underway in this group and that phylogenetic tree-based approach poorly describes evolutionary scenario within this group (Pawłowska et al. 2013). Thus the network-based approach was also tested to explain evolutionary history within *M. circinelloides* complex. All strains identified to species or forma level formed in this case well defined groups. All of them had also common ancestor, although some of them represent intermediate stages, what supports previous CBC analysis based observations. Finally, more detailed studies on sexual

reproduction in this group and comprehensive multi-locus analysis are necessary for a final evaluation of these new tools tested for species delimitation in *M. circinelloides* complex.

The study was supported by Polish Ministry of Science and Higher Education grant NN_303 548 839.

Abarenkov K, Nilsson RH, Larsson K-H, Alexander IJ, Eberhardt U, Erland S, Høiland K, Kjøller R, Larsson E, Pennanen T, Sen R, Taylor AFS, Tedersoo L, Ursing BM, Vrålstad T, Liimatainen K, Peintner U, Kõljalg U (2010) The UNITE database for molecular identification of fungi – recent updates and future perspectives. *New Phytologist*, 186: 281-285.

Benny GL (2012) Current systematics of the zygomycotan fungi with a brief discussion of their biology. In: Misra JK, Tewari JP, Deshmukh SK (red), *Systematics and evolution of fungi. Progress in mycological research*: 55-105. Science Publishers, Enfield, New Hampshire, USA.

Hoffmann K, Pawłowska J, Walther G, Wrzosek M, de Hoog GS, Benny GL, Kirk PM, Voigt K (2013) The family structure of the *Mucorales*: a synoptic revision based on comprehensive multigene-genealogies. *Persoonia*, 30: 57-76.

Kõljalg U, Nilsson RH, Abarenkov K et al. (2013) Towards a unified paradigm for sequence-based identification of Fungi. *Molecular Ecology*, 22: 5271-5277.

Müller T, Philippi N, Dandekar T, Schultz J, Wolf M (2007) Distinguishing species. *RNA*, 13: 1469-1472.

Nilsson RH, Hyde KD, Pawłowska J, Ryberg M, Tedersoo L et al. (2014) Improving ITS sequence data for identification of plant pathogenic fungi. *Fungal Diversity*, (in press).

Pawłowska J, Walther G, Wilk M, de Hoog GS, Wrzosek M (2013) The use of compensatory base change analysis of ITS2 as a tool in the phylogeny of *Mucorales*, illustrated by the *Mucor circinelloides* complex. *Organisms Diversity and Evolution*, 13: 497-502.

Schipper MAA (1973) A study on variability in *Mucor hiemalis* and related species. *Studies in Mycology*, 4: 1-40.

Schipper MAA (1976) On *Mucor circinelloides*, *Mucor racemosus* and related species. *Studies in Mycology*, 12: 1-40.

Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S et al. (2012) The nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109: 6241-6246.

Walther G, Pawłowska J, Alastruey-Izquierdo A, Wrzosek M, Rodriguez-Tudela JL, Dolatabadi S, Chakrabarti A, de Hoog GS (2013). DNA barcoding in *Mucorales*: an inventory of biodiversity. *Persoonia*, 30: 11-47.

Kinetyka rozkładu bisfenolu A przez szczep *Penicillium chrysogenum*

Milena Adela Piątek*, Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; *milenapt@biol.uni.lodz.pl

Wzrost zanieczyszczenia środowiska w ostatniej dekadzie spowodowała zmiany środowiska naturalnego, a tym samym wpłynął negatywnie na organizmy żywe. Ogromnym problemem dla prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych oraz przyrody wydają się być EDCs (ang. Endocrine Disrupting Chemicals), czyli związki zaburzające układ endokrynologiczny. Według Agencji Ochrony Środowiska USA (EPA USA) są to związki egzogenne naśladujące działanie hormonów, które mogą pobudzać bądź hamować pewne receptory. Jednym z takich związków jest bisfenol A wykorzystywany do produkcji wysoko jakościowych przezroczystych butelek dla niemowląt czy smoczków. Dobrym rozwiązaniem dla tej sytuacji stało się poszukiwanie bezpiecznych oraz naturalnych metod do eliminacji tego związku ze środowiska.

Celem pracy było określenie zdolności grzyba strzępkowego *Penicillium chrysogenum* IM 6358 do degradacji bisfenolu A oraz jego wzrostu w obecności ksenobiotyku w podłożu hodowlanym.

Hodowlę mikroskopowego grzyba strzępkowego *P. chrysogenum* prowadzono na podłożu Sabouraud. Analizy wykonano z użyciem chromatografii cieczowej połączonej z tandemową spektrometrią masową (LC MS/MS). Stężenie wyjściowe bisfenolu A (BPA) w podłożu wzrostowym wynosiło 50 mg/l.

Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że szczep *P. chrysogenum* jest zdolny do efektywnego rozkładu BPA. Po upływie 168 h następuje około 80% eliminacja tego związku w stosunku do abiotycznego układu kontrolnego. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość wykorzystania szczepów IM 6358 do efektywnej eliminacji bisfenolu A.

Badania finansowane z grantu z Narodowego Centrum Nauki w Krakowie, nr UMO-2011/01/B/NZ9/02898.

The kinetics of bisphenol A degradation by *Penicillium chrysogenum* strain

Milena Adela Piątek*, Jerzy Długoński

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology
and Environmental Protection, 12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź

*milenapt@biol.uni.lodz.pl

The increase in environmental pollution in the last decade has resulted in environmental changes exerting a negative effect on living organisms. An enormous problem for the proper functioning of living organisms is posed by EDCs (Endocrine Disrupting Chemicals). According to the U.S.

Environmental Protection Agency (U.S. EPA), they are exogenous compounds that mimic the effect of hormones that can stimulate or inhibit certain receptors. This group includes bisphenol A used for the production of high transparent bottles for babies or teats. A good solution to this situation has become the search for safe and natural methods for the elimination of the compound from the environment.

The aim of the study was to determine the ability of the filamentous fungus *Penicillium chrysogenum* IM 6358 to degrade bisphenol A in the presence of the xenobiotic in the culture medium.

The culture of the filamentous fungus *P. chrysogenum* was conducted in Sabouraud medium. The analysis was done by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC MS/MS). The initial concentration of bisphenol A in the growth medium was 50 mg/l.

It has been shown that a strain of *P. chrysogenum* is capable of effective degradation of BPA. After 168 h the elimination of about 80% of the compound relative to abiotic control system was observed. The results indicate the possibility of using the strain IM 6358 for effective elimination of bisphenol A.

This study was supported by the grant of the National Centre for Science in Cracow, Poland, no UMO-2011/01/B/NZ9/02898.

Wpływ zmiany warunków środowiska na proces degradacji bisfenolu A

Milena Adela Piątek*, Adrian Soboń, Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; *milenapt@biol.uni.lodz.pl

Bisfenol A czyli 2,2-bis(p-4-hydroksyfenylo)propan (BPA) jest związkiem organicznym zbudowanym z dwóch fenoli połączonych mostkiem metylowym z dwoma metylowymi grupami funkcyjnymi. Obecnie zaliczany jest do związków zaburzających działanie układu dokrewnego, gdyż reaguje z receptorami estrogenowymi, zaburzając równowagę hormonalną organizmu. Wykazuje także działanie toksyczne dla organizmów wodnych (dawka LC 50 dla ryb i skorupiaków morskich wynosi od 1 do 10 mg/l).

Celem pracy było określenie wpływu NaCl na proces mikrobiologicznej degradacji bisfenolu A.

Hodowlę grzybów strzępkowych prowadzono na podłożu Sabouraud. Analizy wykonano z użyciem chromatografii cieczowej połączonej z tandemową spektrometrią masową (LC MS/MS). Stężenie wyjściowe bisfenolu A w podłożu wzrostowym wynosiło 50 mg/l. Zakres badanego stężenia chlorku sodu wynosił do 40 g/l.

Określono wzrost biomasy *Fusarium oxysporum* na podłożu Sabouraud w obecności NaCl i w przypadku braku chlorku sodu w układzie kontrolnym i w hodowli z dodatkiem ksenobiotyku. Na podstawie otrzymanych wyników

stwierdzono, że skojarzone działanie ksenobiotyku i NaCl w niskich stężeniach, dodawane do hodowli nie ogranicza wzrostu grzybów. Natomiast wyższe stężenia NaCl skutkowały ograniczeniem przyrostu biomasy do około 50%. Dlatego też w kolejnym etapie badań przeanalizowano degradację bisfenolu A w obecności wybranego stężenia NaCl. Wykazano, iż kinetyka ubytku BPA w obecności NaCl przebiega podobnie jak w układzie kontrolnym, niezawierającym dodatku soli. Biorąc jednak pod uwagę ograniczony przyrost biomasy w układzie zawierającym BPA i NaCl można wnosić, że zdolność degradacyjna grzybów znacznie wzrosła.

Przedstawione wyniki pozwalają sądzić, że wykorzystane mikroskopowe grzyby strzępkowe zachowują zdolność do rozkładu BPA w niekorzystnych warunkach takich jak obecność zarówno ksenobiotyku jak i NaCl.

Badania finansowane z grantu z Narodowego Centrum Nauki w Krakowie, nr UMO-2011/01/B/NZ9/02898.

The impact of environmental changes on the degradation of bisphenol A

Milena Adela Piątek*, Adrian Soboń, Jerzy Długoński

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, 12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź;

*milenapt@biol.uni.lodz.pl

Bisphenol A – 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (BPA) – is an organic compound composed of two phenols interconnected by a methyl bridge with two methyl functional groups. Currently, it is one of the compounds disrupting the function of the endocrine system, because it reacts to estrogen receptors, interfering with body's hormonal balance. It also shows toxicity to aquatic organisms (LC 50 dose for marine fish and shellfish is from 1 to 10 mg/l).

The aim of the study was to determine the effect of NaCl on the process of microbial degradation of bisphenol A.

The culture of filamentous fungi was conducted in Sabouraud medium. The analysis was done by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. The initial concentration of bisphenol in the growth medium was 50 mg/l. The sodium chloride concentration was up to 40 g/l.

Fusarium oxysporum biomass growth on the Sabouraud medium in the presence of NaCl and in the absence of sodium chloride and the control system with the addition of a xenobiotic culture was observed. Based on the results obtained it was concluded that the combined effect of the xenobiotic and low concentrations of NaCl added to the culture did not limit the growth of fungi. However, higher concentrations of NaCl resulted in a limitation in the biomass increase to about 50%.

Therefore, in the next stage of the study the degradation of bisphenol A in the presence of selected concentrations of NaCl was examined. It was shown that the kinetics of BPA loss in the presence of NaCl was the same as in the control system containing no salt. However, taking into consideration the limited increase in biomass in the system containing BPA and NaCl, it can be conducted that the degradation ability of fungi increased significantly.

The studies have confirmed that the used microscopic filamentous fungi retain the ability to degrade BPA in adverse conditions such as the presence of

both xenobiotic and NaCl. This study was supported by the grant of the National Centre for Science in Cracow, Poland, no UMO-2011/01/B/NZ9/02898.

Pasażerowie na gapę czy wspólnicy w interesach? Daglezja zielona (*Pseudotsuga menziesii*) i jej symbionty mykoryzowe poza naturalnym zasięgiem występowania

Marcin Pietras^{1*}, Anna Kujawa², Maria Rudawska¹

¹Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk

ul. Parkowa 5, 62-035 Kórnik; *mpietras@man.poznan.pl

²Instytut Środowiska Rolniczego i Leśnego Polskiej Akademii Nauk

ul. Szkolna 4, 64-000 Kościan

Historia celowych i przypadkowych introdukcji organizmów na nowe tereny rozpoczęła się blisko 500 lat temu, w momencie odkrycia Ameryki. Zjawisko rozprzestrzeniania się obcych i inwazyjnych organizmów jest jednym z największych problemów współczesnej ochrony przyrody.

Daglezja zielona (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) występuje naturalnie w Północnej Ameryce, ale ze względu na dobre właściwości drewna i szybki wzrost została przeniesiona poza swój naturalny zasięg do Ameryki Południowej oraz Europy. Obecnie daglezja jest jednym z najczęściej introdukowanych drzew na świecie. We Francji i w Niemczech drzewo to stało się gospodarczo najważniejszym gatunkiem obcego pochodzenia. W Polsce daglezja nie stała się nigdy tak ważna, biorąc pod uwagę produkcję surowca drzewnego, niemniej jednak została skutecznie wprowadzona do polskich lasów już w XIX w. jako ciekawy obiekt badań. Obecnie na terenie zarządzanym przez Lasy Państwowe rośnie blisko 5000 ha drzewostanów daglezjowych.

Przypuszcza się, że w granicach naturalnego występowania daglezja zielona jest zdolna nawiązać symbiozę mykoryzową z blisko 2000 gatunkami grzybów. Głównym celem prezentowanych badań było po pierwsze opisanie zbiorowiska grzybów mykoryzowych daglezji zielonej poza granicami jej naturalnego występowania, a po drugie ocena prawdopodobieństwa przeniesienia obcych gatunków grzybów tworzących symbiozę mykoryzową z daglezją w Polsce.

Badania zostały przeprowadzone w trzech najstarszych drzewostanach daglezjowych w Polsce, rosnących w nadleśnictwach: Nowe Ramuki (wiek 173 lata), Źdroje (wiek 162 lata) oraz Czaplinek (wiek 161 lat). Na tych powierzchniach próby korzeniowe zostały zebrane późną wiosną i jesienią 2013 roku. Dodatkowo wytypowane zostało 8 ok. dwudziestoletnich plantacji daglezji zielonej, z których próby pobrano późną jesienią 2013 roku. Struktura jakościowa zbiorowisk grzybów mykoryzowych została opisana przy wykorzystaniu metody morfologicznej obserwacji mykoryz oraz molekularnej identyfikacji w oparciu o sekwencjonowanie fragmentu ITS rDNA.

W badaniach wyróżnionych zostało 70 morfotypów, reprezentujących 35 taksonów grzybów mykoryzowych. Bogactwo gatunkowe wynosiło do 4 taksonów w przeliczeniu na próbę oraz maksymalnie 9 dla powierzchni badawczej. Najczęstszymi taksonami były: *Cenococcum geophilum*, *Tylopilus felleus*, *Lactarius rufus* oraz grzyby z rodziny *Thelephoraceae*. W trzech z ośmiu badanych plantacji stwierdzono występowanie północno-amerykańskiego maślaka daglezwego (*Suillus lakei*). Zarówno zbiorowiska grzybów mykoryzowych starych drzewostanów daglezwych jak i 20-letnich plantacji charakteryzowały się obecnością rzadkich i zagrożonych gatunków grzybów, takich jak: *Russula atrorubens*, *R. pectinata*, *Cortinarius croceus* lub *Tomentella stiposa*. Na korzeniach daglezw rosnących w plantacji Lutówko po raz pierwszy w Polsce została odnotowana obecność grzyba *Tomentella alni*. Prezentowane wyniki pokazują, że nawet jeżeli wraz z daglezą zostały wprowadzone grzyby z jej naturalnego zasięgu to nie stanowią one istotnego komponentu zbiorowiska jej grzybów mykoryzowych. Dlatego też symbionty mykoryzowe daglezw pochodzące z naturalnego zasięgu mogą być traktowane jako pasażerowie na gapę, a nie jako niezbędni do życia daglezw wspólnicy przyczyniający się do ekspansji tego gatunku poza naturalnym zasięgiem. Przeprowadzone badania mogą być postrzegane jako głos „za” dagleżą zieloną w polskich lasach.

Fare dodgers or partners in good deal – Ectomycorrhizal assemblages of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) in invasion range

Marcin Pietras^{1*}, Anna Kujawa², Maria Rudawska¹

¹Institute of Dendrology Polish Academy of Science

5 Parkowa St., PL-62-035 Kórnik; *mpietras@man.poznan.pl

²Institute of Agriculture and Forest Environment, Polish Academy of Science

4 Szkolna St., PL-64-000 Kościan

The history of organisms introduction have begun about 500 years ago, after America discover. Nowadays introductions and spreading of foreign and invasive organisms is one of the most important problems in nature conservation. One of the most planted tree species in the world is Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). This tree occurs naturally in North America, but because of its fast growth and good wood properties it has been cultivated outside of its native range, in Europe and South America for almost 200 years. In France and Germany, Douglas fir has become one of the most important tree species. In Poland this species did not has a significant position for timber production, anyway was successfully introduced in 19th century as a forestry research subject. Currently, in total almost 5,000 ha of Douglas fir forests grow on areas managed by State Forests National Forest Holding. In natural range Douglas fir is capable of forming mycorrhizae with as many as 2000 species of fungi. The main objectives of this study is 1) to describe ectomycorrhizal (ECM) fungal composition of Douglas fir outside natural

range and 2) to assess potential occurrence of foreign ECM fungi assembled with *Pseudotsuga menziesii* in Poland.

Oldest Douglas fir stands located in three forestry commissions has been investigated: Nowe Ramuki Forestry Commission, (age-173 years), Zdroje Forestry Commission (age-162 years) and Czaplinek Forestry Commission (age-161-years). From each study field root samples has been taken in late and spring and in autumn 2013. Additionally eight approximately 20-years old plantation of Douglas fir were studied in late autumn 2013. The ECM community composition naturally colonizing Douglas firs roots was described using compilation of morphological and molecular approach. Molecular identification of ectomycorrhizas has been performed based on PCR and sequencing of the ITS of rDNA.

Altogether 70 morphotypes, represent 35 ECM taxa, has been distinguished. The species richness ranged 4 and 9 species per sample and site, respectively. Most frequent taxa were: *Cenococcum geophilum*, *Tylopilus felleus*, *Lactarius rufus* and members of thelephoroid fungi. In case of analyzed old forests any foreign ECM taxa has not been found. In three out of eight 20-years old plantations mycorrhizas of North American species, *Suillus lakei*, were identified. Ectomycorrhizal assemblages of Douglas fir old forests, as well as plantations are characterized by high number of rare and endangered fungal species e.g. *Russula atrorubens*, *R. pectinata*, *Cortinarius croceus* or *Tomentella stuposa*. In Lutówko plantation *Tomentella alni* has been recorded for the first time in Poland. Presented results show, that even if alien fungi has been introduced with Douglas fir to novel range, they should be regarded as a “fare dodgers”, because Douglas fir is able to assembly others, native ECM fungi. This study is also a vote pro Douglas fir in Polish forests.

Przywracanie nadrzewnych grzybów chronionych z warunków ex situ do środowiska przyrodniczego

Jacek Piętka

Katedra Ochrony Lasu i Ekologii, Wydział Leśny

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego

ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa; jacek_pietka@sggw.pl

W rozporządzeniu Ministra Środowiska z 2004 roku w sprawie gatunków dziko występujących grzybów objętych ochroną (Dz. U. 2004 Nr 168, poz. 1765) pojawił się zapis zezwalający na prowadzenie działań polegających na przywracaniu grzybów z warunków *ex situ* do środowiska przyrodniczego, przenoszeniu grzybów zagrożonych na nowe stanowiska. Z listy gatunków dziko występujących grzybów nadrzewnych, objętych ochroną ścisłą, udało się pozyskać do badań za zgodą z Ministerstwa Środowiska następujące gatunki: *Bondarzewia mesenterica* (Schaeff.) Kreisel, *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Fomitopsis rosea* (Alb. & Schwein.) P. Karst., *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray, *Hericium coralloides* (Scop.) Pers., *Hericium flagellum* (Scop.) Pers., *Meripilus giganteus* (Pers.) P. Karst. oraz *Sparassis crispa* (Wulfen) Fr.

Przeprowadzono szereg badań laboratoryjnych (Zakład Mikologii i Fitopatologii Leśnej SGGW) i terenowych (Leśny Zakład Doświadczalny SGGW w Rogowie oraz Nadleśnictwa Zagnańsk i Mińsk) z wykorzystaniem grzybni pozyskanych gatunków grzybów nadrzewnych. W drzewostanach LZD w Rogowie oraz Nadleśnictwa Zagnańsk zaszczepiono inokulatami z grzybnią ww. gatunków grzybów łącznie 80 drzew, a w Nadleśnictwie Mińsk 50 wałków drewna. Inokulacja żywych drzew okazała się skuteczna w przypadku: *B. mesenterica*, *F. rosea*, *H. flagellum*, *H. coralloides* i *F. hepatica*, ponieważ we wszystkich ściętych drzewach próbnych, stwierdzono aktywną grzybnię wszczepionego gatunku. Dodatkowo udało się reizolować grzybnię *F. rosea*, *H. coralloides* i *F. hepatica* ze sztucznie inokulowanych wałków drewna. Wyniki reizolacji zostały potwierdzone przy wykorzystaniu technik biologii molekularnej (PCR). Próby inokulacji drzew i wałków grzybnią *M. giganteus*, *G. frondosa* i *S. crispa* okazały się nieskuteczne. Wydaje się, iż istotnym czynnikiem decydującym o niskiej udatności sztucznej inokulacji jest poziom wilgotności drewna w okolicach wykonanych nawiertów. W przyszłości należy prowadzić dalsze badania nad możliwością czynnej ochrony tych gatunków grzybów chronionych oraz zwrócić większą uwagę na rolę wilgotności drewna w procesie kolonizacji substratu przez grzyby chronione.

Wyniki indywidualnych efektów biotycznych, doświadczeń terenowych i laboratoryjnych (w tym analiz genetycznych) wskazują, iż gatunki grzybów chronionych mogą ulegać w bezpośredniej konkurencji o bazę pokarmową z wieloma grzybami z klasy Basidiomycetes występującymi w naturze na tym samym substracie (gatunku drewna). Do najbardziej agresywnych konkurentów grzybów chronionych należą: *Stereum hirsutum*, *Hypoxylon fragiforme*, *Phlebiopsis gigantea*, *Bjerkandera adusta*, *Heterobasidion* sp., *Coniophora* sp.

Czyste kultury badanych nadrzewnych grzybów chronionych są obecnie przechowywane w laboratorium Zakładu Mikologii i Fitopatologii Leśnej SGGW. Kultury te stanowią swoisty bank genów i można je w przyszłości wykorzystać przy planowaniu działań z zakresu ochrony czynnej grzybów nadrzewnych w lasach.

Reintroducing protected lignicolous fungi cultured ex situ to the natural environment

Jacek Piętka

Department of Forest Protection and Ecology, Faculty of Forestry

Warsaw University of Life Sciences – SGGW

166 Nowoursynowska St., PL-02-787 Warszawa; jacek_pietka@sggw.pl

The ordinance of the Minister of Environment of 2004 on the protection of wild fungi species (Journal of Laws of the Republic of Poland of 2004 No. 168, item 1765) contains a provision that allows for conducting activities consisting in reintroducing fungi cultured ex situ to the natural environment and moving

endangered fungi to new locations. The specimens of the following wild-growing tree fungi species that are on the list of strictly protected species in Poland have been obtained for research (which required the permission of the Ministry of Environment): *Bondarzewia mesenterica* (Schaeff.) Kreisel, *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Fomitopsis rosea* (Alb. & Schwein.) P. Karst., *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray, *Hericium coralloides* (Scop.) Pers., *Hericium flagellum* (Scop.) Pers., *Meripilus giganteus* (Pers.) P. Karst. and *Sparassis crispa* (Wulfen) Fr.

A number of laboratory tests (Institute of Forest Mycology and Plant Pathology of the Warsaw University of Life Sciences – SGGW) and field research (Forest Experimental Station of the SGGW in Rogów, Zagnańsk and Mińsk Forest Divisions) have been conducted using the mycelia of lignicolous fungi. In tree stands of the FES in Rogów and the Zagnańsk Forest Division, inoculants consisting of the mycelium of the above listed fungi species were inoculated onto 80 trees in total, whereas in the Mińsk Forest Division 50 tree logs were inoculated. The inoculation of growing trees proved successful in the case of: *B. mesenterica*, *F. rosea*, *H. flagellum*, *H. coralloides* and *F. hepatica*, as in all sample trees that were cut down the active mycelia of the inoculated fungi species were found. Additionally, it also proved possible to reisolate the mycelia of *F. rosea*, *H. coralloides* and *F. hepatica* from artificially inoculated wood logs. The results of reisolation were confirmed with the aid of molecular biology (PCR).

The attempts to inoculate trees and tree logs with the mycelia of *M. giganteus*, *G. frondosa* and *S. crispa* proved unsuccessful. Seemingly, a relevant factor determining the low rate of success of artificial inoculation was the level of wood dampness in the proximity of the inlet holes. In the future, further studies should be conducted focusing on the possibility of actively protecting those fungi species, paying more attention to the role of wood dampness in the process of substrate colonization by the protected fungi.

The results of individual biotic effects, field and laboratory experiments (including genetic analyses) indicate that protected fungi species may lose in a direct competition for nutritional base against many fungi representing the class Basidiomycetes that naturally occur on the same substrate (i.e. the same tree species). Among the most aggressive competitors competing for nutritional base against the protected fungi species are the following: *Stereum hirsutum*, *Hypoxylon fragiforme*, *Phlebiopsis gigantea*, *Bjerkandera adusta*, *Heterobasidion* sp., and *Coniophora* sp.

Pure cultures of the studied protected tree species are presently being stored in the laboratory of the Institute of Forest Mycology and Plant Pathology of the Warsaw University of Life Sciences – SGGW. Those cultures constitute a kind of a gene bank and may be utilized in the future while planning activities

connected with active protection of forest tree fungi.

Analiza funkcjonalna i molekularna transportera siarczanowego AstA w grzybowym patogenicie ziemniaka *Fusarium sambucinum*

Sebastian Piłsyk¹, Hanna Gawińska-Urbanowicz², Marzena Sieńko¹,
Renata Natorff¹, Joanna S. Kruszewska¹

¹Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa

²Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, 76-009 Bonin k/ Koszalina

Białko AstA (Alternative Sulfate Transporter) reprezentuje nieznaną dotychczas typ transportera dla siarczanu, należącego do słabo poznanej rodziny permeaz alantoinianowych Dal5 (Piłsyk et al. 2007). Gen kodujący białko AstA ulega ekspresji w warunkach głodu siarkowego u *Aspergillus nidulans*. Najbliższe homologi tego genu występują u często niespokrewnionych ze sobą grzybów nitkowatych z taksonu *Pezizomycotina* odległych od siebie ewolucyjnie (rzędy *Sordariales* i *Eurotiales*), których wspólną cechą, poza nielicznymi wyjątkami, jest patogenność wobec roślin. Są to głównie patogeny roślin uprawnych, reprezentowane przez dotychczas zsekwencjonowane gatunki: *Fusarium graminearum* (*Giberella zeae*), *F. verticillioides* (*Giberella moniliformis*), *F. oxysporum*, *Nectria haematococca* (*Fusarium solani*), *Verticillium albo-atrum*, *V. dahliae*, *Septoria musiva*, *Leptosphaeria maculans*. Homolog AstA występuje też w celulolitycznym gatunku *Chaetomium globosum*, wyrządzającym znaczne szkody w przemyśle papierniczym, u oportunistycznego ludzkiego patogena *Neosartorya fischeri*, u nieszkodliwej *Podospora anserina* występującej w odchodach kopytnych zwierząt roślinożernych (krowa, koń), jak i u entomobiokontrolnych gatunków *Metarhizium* (zielona muskardyna).

Grupa grzybów *Fusarium* sp. m. in. *F. sambucinum* czyni poważne szkody w uprawach ziemniaków, a środki ochrony roślin podnoszą koszty uprawy. Zasadniczym problemem w walce z grzybowymi patogenami roślin jest zbyt duże podobieństwo metaboliczne oraz białkowe patogenów względem gospodarza.

Celem projektu jest określenie funkcji, jaką pełni AstA w procesie infekcyjności i zasiedlania rośliny przez patogeny grzybowe z rodzaju *F. sambucinum*, w szczególności przez mutanty delecyjne *astA*. Transkrypt genu *FastA* ulega znaczącej derepresji w zainfekowanych bulwach ziemniaka i jest regulowany podobnie do ortologa z *A. nidulans*. Badania cytoplazmatycznej pętli transportera wykazały udział konserwowanych reszt lizyny w transporcie siarczanu. Wyjaśnienie biologicznej funkcji transportera AstA pozwoli zrozumieć przystosowania metaboliczne patogena podczas infekcji rośliny i wyznaczyć nowe miejsca uchwytu dla potencjalnych fungicydów.

Functional and molecular analysis of AstA sulfate transporter in potato fungal pathogen *Fusarium sambucinum*

Sebastian Piłsyk¹, Hanna Gawińska-Urbanowicz², Marzena Sieńko¹,
Renata Natorff¹, Joanna S. Kruszewska¹

¹Institute of Biochemistry and Biophysics PAS,
5a Pawińskiego St., PL-02-106 Warszawa

²The Plant Breeding and Acclimatization Institute (IHAR)
PL-76-009 Bonin k/ Koszalina

AstA protein (alternative sulfate transporter) represents a little known type of sulfate transporter, belonging to an extensive and poorly characterized family of allantoin permeases Dal5. In *Aspergillus nidulans* the *astA* gene is under the control of Sulfur Metabolite Repression (SMR) (Piłsyk et al. 2007). The closest homologs of *astA* are frequent in evolutionarily distant fungi belonging to the *Pezizomycotina* subphylum which exhibit similar plant pathogenicity. They are mostly crop pathogens represented by species sequenced for now: *Fusarium graminearum* (*Giberella zeae*), *F. verticillioides* (*Giberella moniliformis*), *F. oxysporum*, *Nectria haematococca* (*Fusarium solani*), *Verticillium albo-atrum*, *V. dahliae*, *Septoria musiva*, *Leptosphaeria maculans*. AstA homologue is also present in: cellulolytic *Chaetomium globosum* detrimental for paper industry, opportunistic human pathogen *Neosartorya fischeri*, as well as in harmless *Podospora anserina* habitating cattle dung, and also is present in entomobiocontrol fungi like *Cordyceps militaris* and *Metarhizium anisopliae* (green muscardine).

Fusarium sp. fungi, like *F. sambucinum*, contribute to serious devastation of potato crops and increase the cost of cultivation due to the application of pesticides. Due to the similarity on the metabolic level between pathogenic fungi and the host, there is a problem with efficient plant protection.

The aim of this project is elucidation of AstA function upon infection and colonization of potato tubers by the fungal pathogen, *Fusarium sambucinum* and by its *astA* deletion mutant. We have observed a high expression level of *astA* in infected potato tubers and its regulation by SMR as in *A. nidulans*.

The study also involves the identification of amino acid residues crucial for sulfate binding and transportation by the generation of point mutations and uptake analysis. Elucidation of the biological function of AstA will help understanding of fungal pathogenic adaptations upon changes in plant host metabolism and definition of a new promising target for a potential fungicide.

Piłsyk, S., Natorff, R., Sieńko, M., Paszewski, A. 2007. Sulfate transport in *Aspergillus nidulans*: A novel gene encoding alternative sulfate transporter. *Fungal Genet Biol.*, 44(8): 715-725.

Badania zdrowotności buka zwyczajnego w Parku Południowym we Wrocławiu

Elżbieta Płaskowska¹, Katarzyna Nowik², Maciej Rdzanek¹

¹Zakład Fitopatologii i Mikologii, Katedra Ochrony Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 24a, 53-363 Wrocław

²Generalna Dyrekcja Lasów Państwowych w Warszawie
Zespół Ochrony Lasu we Wrocławiu, ul. Grunwaldzka 90, 50-357 Wrocław

Buk zwyczajny (*Fagus silvatica* L.) jest jednym z najważniejszych leśnych drzew liściastych w Europie. Ze względu na duże rozmiary, monumentalną sylwetkę pełni on również ważną rolę w warunkach miejskich, ponieważ oczyszcza powietrze, chroni przed upałem i daje schronienie różnym pożytecznym organizmom. Badania zdrowotności drzew buka zwyczajnego rosnącego w Parku Południowym we Wrocławiu przeprowadzono jesienią 2013 roku. Celem badań było ustalenie przyczyny pogorszenia się ich stanu zdrowotnego.

Na podstawie przeprowadzonych oględzin ustalono, że przyczyną pogarszania się stanu zdrowotnego większości badanych drzew był głównie wachlarzowiec olbrzymi – *Meripilus giganteus* (Pers.) P. Karst. (syn. flagowiec olbrzymi, żagiew olbrzymia). Gatunek ten w Polsce jest objęty ochroną ścisłą. W Parku Południowym we Wrocławiu zasiedlał drzewa osłabione przez różne czynniki biotyczne i abiotyczne, rzadziej martwe. Jego owocniki wyrastały najczęściej u podstawy pnia żywych, słabych i uszkodzonych, rzadziej martwych drzew. Były bardzo duże, osiągały średnicę od 30 do 80 cm.

Na jednym z drzew, na martwym egzemplarzu buka stwierdzono również drobne, kuliste owocowania pospolitych grzybów saprotroficznych rozkładających drewno: *Neonectria coccinea* (Pers.) Rossman & Samuels – gruzłek szkarłatny, *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. – gruzłek cynobrowy, *Hypoxylon fragiforme* (Pers.) J. Kickx – drewniak szkarłatny. Są to grzyby saprotroficzne, bardzo powszechne w Europie Środkowej. Występują przez cały rok na drzewach liściastych różnych gatunków. Ostatni gatunek rośnie na martwym drewnie drzew liściastych, głównie na buku (na pniu, pniakach i na gałęziach). Często rośnie w towarzystwie wrośniaka szorstkiego i wraz z nim należy do grzybów, które jako pierwsze zaczynają rozkładać martwe drewno. Podczas wizji terenowej pobrano fragmenty kory oraz owocników wymienionych grzybów w celu ich identyfikacji.

Na nabiegach korzeniowych jednego z buków z objawami zamierania gałęzi i konarów obecne były owocniki grzyba kapeluszowego *Pholiota squarrosa* (Vahl) P. Kumm – łuskwiak nastroszony. Gatunek ten w Polsce jest pospolity na całym obszarze, zarówno na niżu, jak i w górach. Rośnie na powalonym drewnie, lub u podstawy pni żywych drzew, zarówno liściastych, jak i iglastych, jednak na iglastych dużo rzadziej. Występuje kępami, od lata do jesieni. Na opanowanych przez niego drzewach dość szybko pojawia się biała zgnilna drewna, która w ciągu kilku lat niszczy drzewo.

European beeches health research in Park Południowy in Wrocław, Poland

Elżbieta Płaskowska¹, Katarzyna Nowik², Maciej Rdzanek¹

¹Wrocław University of Environmental and Life Sciences

Department of Plant Protection, Plant Pathology and Mycology Division

24a Grunwaldzki Sq., PL-53-363 Wrocław

²Forestry Protection Team in Wrocław, General Directorate of State Forests in
Warsaw, 90 Grunwaldzka St., PL-50-357 Wrocław

European beech (*Fagus silvatica* L.) is one of the most important deciduous trees in Europe. Because of its large proportions, its monumental silhouette also plays quite a role in urban areas – it cleans the air, protects from heat and gives shelter to many helpful organisms. The health research of European beeches growing in Wrocław Park Południowy took place in autumn of 2013. The purpose of the study was to determine the cause of a worsened state of health of aforementioned trees.

Based on observations it has been determined that the cause of worsening health state of most of the studied European beeches was presence of *Meripilus giganteus* (Pers.) P. Karst. This species is under strict protection in Poland. In Wrocław Park Południowy it grew mainly on trees weakened by factors of biotic and abiotic nature, rarely dead ones – its fruiting bodies usually rise out of trunk's bases, being considerably large with their diameter spanning between 30 to 80 cm.

On one of trees, a dead specimen of beech, fructifications of common saprophytic fungi decomposing wood – such as *Neonectria coccinea* (Pers.) Rossman & Samuels, *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr., *Hypoxylon fragiforme* (Pers.) J. Kickx – were found. Those species being widespread in Central Europe, they grow throughout whole year on many types of deciduous trees. The last mentioned fungus grows on dead wood, mainly beech (on its trunk and branches). It is very often accompanied by *Trametes hirsute*, where in a tandem these two organisms are first in line to start the dead wood decomposition. During the fieldwork pieces of tree's bark and fruiting bodied were collected for identification purposes.

On the root's inflows of one of the beeches, showing symptoms of branches and boughs dying, fruiting bodies of *Pholiota squarrosa* (Vahl) P. Kumm were found. The species is common across Poland – both in highlands and lowlands. It grows on fallen trees or at the trunk's base of living ones – deciduous and conifers, however less frequently on the latter ones. It appears in clusters from summer to autumn. On trees affected by the fungus a white rot

sets in quickly, which in a short period of just a few years leads to the tree's complete decay.

Bioróżnorodność potencjalnie alergogennych grzybów pleśniowych izolowanych z fermy drobiarskiej

Kinga Plewa-Tutaj

Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. Angelusa Silesiusa w Wałbrzychu
ul. Zamkowa 4, 58-300 Wałbrzych; kplewa@pwsz.com.pl

Współczesna hodowla zwierząt jest znaczącym źródłem wielu gatunków grzybów pleśniowych, które odgrywają istotną rolę w etiologii chorób układu oddechowego. Prawidłowa identyfikacja potencjalnie alergogennych szczepów jest niezwykle istotna. Jednak tradycyjne metody diagnostyki mykologicznej, oparte głównie na cechach morfologicznych, niejednokrotnie okazują się wyzwaniem, również dla specjalisty mykologa. Nie zawsze są one bowiem precyzyjne, ze względu na obecność w powietrzu ogromnej liczebności grzybów z różnych grup taksonomicznych. Dlatego też, celem niniejszej pracy było określenie bioróżnorodności grzybów pleśniowych izolowanych z powietrza fermy drobiarskiej, z wykorzystaniem zarówno klasycznych metod diagnostycznych, jak i technik biologii molekularnej.

Próbki powietrza pobierano na podłoże Sabourauda za pomocą metody zderzeniowej, wykorzystując do tego celu urządzenie MAS-100 firmy Merck. Zakres morfologicznych badań mykologicznych obejmował oznaczenie grzybów pleśniowych, które wyrosły w temperaturze 28°C po 3-7 dniach inkubacji. Diagnostyka molekularna oparta była natomiast na izolacji DNA, amplifikacji regionu ITS metodą PCR, elektroforezie i sekwencjonowaniu.

W niniejszej pracy oznaczono i wyizolowano DNA z 95 problematycznych szczepów grzybów pleśniowych. Wyniki analiz molekularnych wskazują, że region ITS dobrze sprawdza się w systematyce molekularnej grzybów pleśniowych na poziomie zarówno rodzaju, jak też gatunku. Badanie oparte na analizie długości fragmentu ITS, jak i na tradycyjnych metodach diagnostycznych pozwoliło na zidentyfikowanie 76 szczepów do poziomu gatunków, jak również 19 do poziomu rodzaju. Większość badanych szczepów zakwalifikowano do 2 gromad: *Zygomycota* z przedstawicielem jednego gatunku *Rhizopus oryzae* oraz *Ascomycota* reprezentowanej przez cztery klasy: *Eurotiomycetes*, do której przynależą rodzaje *Aspergillus*, *Emericella* i *Penicilium*; *Sordariomycetes* z rodzajami *Fusarium*, *Lecanicilium*, *Hypocrea*, *Scopulariopsis*, *Chaetomium*, *Arthrimum*; *Dothideomycetes* z reprezentantami rodzajów: *Cladosporium*, *Davidiella*, *Coniothyrium*, *Alternaria*, *Ulocladium*; *Leotiomycetes* – z jednym tylko izolatem zaklasyfikowanym do rodzaju *Botryotinia*. Większość wyizolowanych gatunków to potencjalne alergeny.

Biodiversity of potential allergenic airborne molds isolated from the poultry house

Kinga Plewa-Tutaj

The Angelus Silesius State School of Higher Vocational Education
4 Zamkowa St., PL-58-300 Wałbrzych; kplewa@pwsz.com.pl

The production of poultry has proved to be a significant source of different kind of molds. Therefore farming objects could be considered for the important reservoirs in the etiology of respiratory diseases and as potential habitats for opportunistic agents responsible different fungal infections, primarily irritations, allergies and toxic effects.

Detection and their identification is very important, because it provides significant information about the properties of the strains. Conventional methods for fungal identification are primarily based on morphological methods, which can be challenging even for a mycologist, due to the taxonomically high divergence of these microorganisms. For that reason, the aim of this study was to determine the taxonomic diversity of airborne fungi residing in the air of poultry houses using the combination of microscopic and genetic analyses.

The air analysis was performed by the impact method (Merck MAS-100 KgaA, Darmstadt, Germany) using a Sabouraud culture medium. The plates were incubated 3–7 days at 28°C and after that the dominant fungal species were inoculated on the special media culture (CYA, MEA, DG-18, Czapek-Dox) and identified on the basis of color, texture, topography of the culture, smell of the colony, color of the reverse of the colony and the presence of a diffuse color pigment. Microscopic features of the fungal colonies, i.e. the presence of macroconidia and microconidia, their shape and appearance were identified later. The next step of identification was using molecular methods: DNA extractions, amplification of ITS region using pair of primers V9G (5'-TTA CGT CCC TGC CCT TTG TA- 30) and LS266 (50-GCA TTC CCA AAC AAC TCG ACT C-3'), gel electrophoresis and DNA sequencing.

In this study identified and isolated DNA from 95 fungal problematic strains. Results obtained from the molecular analysis ITS allowed to identification of those strains not identified microscopically. The study based on the analysis of ITS region has enabled to identify 76 fungal strains to species level and 19 to genera level. The most of the isolated strains identified in both methods classified to two phylum: *Zygomycota* with one species *Rizopus oryzae* and the *Ascomycota* represented by four classes: *Eurotiomycetes* with the *Aspergillus*, *Emericella* and *Penicillium* genera; *Sordariomycetes* with the *Fusarium*, *Lecanicilium*, *Hypocrea*, *Scopulariopsis*, *Chaetomium*, *Arthrinium* genera; *Dothideomycetes* with representatives of the *Cladosporium*, *Davidiella*, *Coniothyrium*, *Alternaria*, *Ulocladium* genera; *Leotiomycetes* – with only one species belonged to *Botryotinia* genera.

The majority of these species are known as the potential respiratory allergens. For example, *Penicillium* and *Cladosporium* are recognized as a causative agents of fungal allergy and pulmonary infections. On the other hand,

the presence of potential pathogens from the genus *Aspergillus* poses a risk of invasive aspergillosis in farm workers and those living in the proximity of the farms. We should also emphasize that *Alternaria* which was identified in the air is one of the most common fungi associated with asthma.

Wpływ różnych koncentracji grzybów patogenicznych na śmiertelność przędziorka chmielowca *Tetranychus urticae*

Tomasz Pytlak

Instytut Ochrony Roślin, Państwowy Instytut Badawczy
ul. Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań

Przędziorek chmielowiec posiada znaczną liczbę roślin-gospodarzy. Można wśród nich wyróżnić zarówno rośliny wieloletnie, jak i jednoroczne. Jak podają źródła, w ostatnich latach przędziorki stały się poważnym problemem w uprawach buraków. Zwalczanie chemiczne szkodnika w tych uprawach nie zawsze jest skuteczne, ponieważ oprysk substancjami aktywnymi z jednej grupy chemicznej może prowadzić do wyselekcjonowania osobników odpornych. Potencjalnym rozwiązaniem jest stosowanie preparatów biologicznie czynnych. Jedną z możliwości jest wykorzystanie grzybów patogenicznych, które pozwoliłyby ograniczyć populację roztoczy. W literaturze można znaleźć wiele przykładów stosowania preparatów opartych na grzybach. Wykorzystuje się w nich takie gatunki, jak *Beauveria bassiana*, *Lecanicilium lecanii*, *Isaria fumosorosea*.

W tych badaniach wykorzystano 4 izolaty grzybów patogenicznych: *B. bassiana*, *L. lecanii*, *I. fumosorosea* i *Pecilomyces lilacinus*. Roztocza pozyskane z upraw buraka cukrowego, zostały wyłożone na liście buraka i opryskane zawiesinami zarodników. Wykorzystano stężenia 10^5 , 10^6 , 10^7 , następnie obserwowano śmiertelność przędziorków.

Największą skuteczność wykazał gatunek grzyba *L. lecanii* w koncentracji zarodników 10^5 /ml, wraz ze wzrostem koncentracji śmiertelność przędziorków malała. Również wysoką śmiertelność powodował grzyb *B. bassiana* (10^7 /ml), w przypadku tego grzyba, wraz ze wzrostem koncentracji zarodników śmiertelność obiektów rosła. Pozostałe dwa gatunki grzybów powodowały poniżej 50% śmiertelności przędziorków, w każdym wariantcie. Najmniejszą skutecznością wykazał się gatunek *I. fumosorosea* w koncentracji zarodników 10^5 /ml.

The influence of different concentrations of pathogenic fungi on mortality twospotted spider mite *Tetranychus urticae*

Tomasz Pytlak

Institute of Plant Protection – National Research Institute
20 Władysława Węgorka St., PL-60-318 Poznań

Mite has a considerable number of plant hosts. We may distinguish perennials and annuals. According to sources, in the last few years spiders have become a serious problem in beet. Chemical elimination of the pest in

these crops is not always successful, since the application of the active substances from one chemical group may result to the selection of resistant specimens. A potential solution is the use of biologically active compounds. One possibility is the use of pathogenic fungi, which would reduce the population of mites. In the literature can find many examples of formulations based on fungi. It is used in them, such species like *Beauveria bassiana*, *Lecanicilium lecanii*, *Isaria fumosorosea*.

In these studies the use of 4 pathogenic fungi isolates of *B. bassiana*, *L. lecanii*, *I. fumosorosea* and *Pecilomyces lilacinus*. Mites obtained from sugar beet crops were put on beet leaf and sprayed with suspensions of spores. Concentration was used 10^5 , 10^6 , 10^7 , and then observed mortality mites.

The highest efficiency showed a species of fungus *L. lecanii* in concentration of spores 10^5 /ml, with increasing concentration of spores decreased mortality mite. Also, the high mortality rate resulted fungus *B. bassiana* (10^7 /ml) in the case of this fungus, with an increase in the concentration of spores mortality objects grew. The other two species of fungi resulted less than 50% mortality of mites in each variant. The smallest efficacy showed species *I. fumosorosea* in the concentration of spores 10^5 /ml.

Ocena tempa wzrostu liniowego grzybni *Rhizoctonia solani* na różnych podłożach hodowlanych

Maciej Rdzanek, Elżbieta Płaskowska

Zakład Fitopatologii i Mikologii, Katedra Ochrony Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 24a, 53-363 Wrocław

Rhizoctonia solani jest polifagicznym grzybem, sprawcą groźnych chorób wielu roślin, w tym roślin uprawnych. Szczególnie duże znaczenie grzyb ma w uprawie ziemniaka, gdzie powoduje rizoktoniozę. Celem badań było wskazanie podłoża, które najlepiej nadaje się do hodowli grzyba *R. solani* w warunkach laboratoryjnych.

Ocenę intensywności wzrostu liniowego grzybni *R. solani* na różnych podłożach hodowlanych przeprowadzono w laboratorium Zakładu Fitopatologii i Mikologii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Do badań wykorzystano szczep *R. solani* wyizolowany z ziemniaka. W badaniach uwzględniono 8 różnych podłoży hodowlanych: pożywkę maltozową, kukurydzianą, Czapek-Doxa, Martina, zbożową, Sabourauda, Agar Sabourauda oraz pożywkę ziemniaczaną PDA. Początkowo hodowlę grzyba prowadzono na podłożu PDA. Następnie z dwutygodniowej kultury wycinano krążki o średnicy 1 cm, które wykładano na środek szalki Petriego o średnicy 9 cm z odpowiednim podłożem. Od momentu inokulacji mierzono średnicę kolonii na każdym z podłoży w odstępach 24-godzinnych aż do momentu osiągnięcia przez grzybnie średnicy szalki. Doświadczenie wykonano w 5 powtórzeniach. Po 15 dniach od inokulacji, krążkiem grzybni wyciętej z kultur na poszczególnych pożywkach ponownie inokulowano szalkę z podłożem PDA, w celu oceny wigoru kolonii z różnych podłoży.

Uzyskane wyniki wskazują, że *R. solani* najbardziej intensywnym i bujnym

wzrostem odznaczał się na podłożu PDA. Grzyb na podłożu PDA osiągnął średnicę szalki w 6. dniu po inokulacji. W tym samym dniu brzeg szalki osiągnęły kolonie na podłożach Czapek-Doxa, maltozowym, kukurydzianym i Sabourauda przy czym na podłożu kukurydzianym kolonia *R. solani* rozrastała się w postaci pojedynczych, hialinowych strzępek. Szczep wykorzystany w doświadczeniu rósł najslabiej na pożywce Martina, osiągając na tym podłożu średnicę 9 cm po 9 dniach od inokulacji. Równie słabym wzrostem *R. solani* odznaczała się na pożywce zbożowej, na której kolonia również osiągnęła brzeg szalki po 9 dniach. Po ponownym przepasażowaniu kultur na podłożu PDA, żadna z kultur nie wykazywała zmniejszonej żywotności. Wszystkie kultury *R. solani* przeszczepione z różnych podłoży ponownie na podłożu ziemniaczane osiągnęły brzeg szalki po 6 dniach od inokulacji.

Na podstawie uzyskanych wyników badań można stwierdzić, iż spośród przebadanych podłoży najlepszym do hodowli *R. solani* jest podłoże PDA.

Evaluation of linear growth of *Rhizoctonia solani* mycelium on various culture media

Maciej Rdzanek, Elżbieta Płaskowska

Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Department of Plant Protection, Plant Pathology and Mycology Division
24a Grunwaldzki Sq., PL-53-363 Wrocław

Rhizoctonia solani is a polyphagous fungus, the perpetrator of serious diseases of many plants, including crops. Particularly important role fungus plays in potato, where it causes collar rot. The aim of the study was to identify the medium, which is best suited for the cultivation of the fungus *R. solani* under laboratory conditions.

The evaluation of the intensity of *R. solani* mycelia linear growth on different culture media were performed in the laboratory of the Plant Pathology and Mycology Division at the Wrocław University of Environmental and Life Sciences. The study used a strain of *R. solani* isolated from potato. The study included 8 different culture media: malt extract, corn meal agar, Czapek-Dox, Martin, cereal medium by Rashid and Schlösser [1977], Sabouraud medium, Agar-Sabouraud medium and potato dextrose agar (PDA). Initially, the culture of the fungus was carried out on PDA medium. Then, from the two-week old culture disks with a diameter of 1 cm were cut and placed on the center of a 9 cm Petri plate containing a suitable medium. From the moment of inoculation, colony diameter was measured on each medium at 24 hour intervals until the colony diameter reached the edge of the plate. The experiment was performed in 5 replications. Fifteen days after inoculation, the mycelium disk cut from the culture on each medium was transferred again at the PDA medium to assess the different media colonies vigor.

The results indicate that *R. solani* has the most intense linear growth on the PDA medium. Fungus on this medium reach a diameter of the dish after 6 days from the inoculation. On the same day the colonies reached the edge of the plates on Czapek-Dox medium, malt extract, corn meal agar and Sabouraud

medium. *Rhizoctonia solani* colony on the corn meal agar was growing in the form of single, hyaline hyphae. The strain used in the experiment had the slowest growth rate on a Martin medium, the colony growing on this medium reached a diameter of 9 cm after 9 days from the inoculation. Equally weak growth of *R. solani* was observed on a cereal medium on which the colony reached the edge of the plate after 9 days. After cultures were transferred back on PDA medium, none of the cultures did not show a reduced vitality. All the cultures of *R. solani* from various media transferred to the PDA medium again, reached the edge of the plate after 6 days.

On the basis of obtained results it can be concluded that among the tested media, best for rearing *R. solani* is a PDA medium.

Partnerzy trufli letniej (*Tuber aestivum* Vittad.)

Aleksandra Rosa-Gruszecka^{1*}, Dorota Hilszczańska²,

Hanna Szmidla¹, Katarzyna Sikora¹

¹Zakład Ochrony Lasu, ²Zakład Ekologii Lasu i Łowiectwa

Instytut Badawczy Leśnictwa, Braci Leśnej 3, Sękocin Stary, 05-090 Raszyn

tel.: 48 227 150 353, fax: 48 227 150 557, *A.Rosa@ibles.waw.pl

Trufle są podziemnymi grzybami należącymi do Ascomycota, rzędu *Pezizales*. Grzyby te rozwijają się jedynie w bardzo złożonej sieci symbiotycznych relacji. W prawie każdym stadium rozwoju są połączone z innymi formami życia, włączając rośliny, zwierzęta i mikroorganizmy.

Niektóre gatunki trufli są bardzo cenione z uwagi na walory kulinarne. Jednym z nich jest trufia letnia (*Tuber aestivum* Vittad.) Trufia letnia tworzy symbiozę mykoryzową z wieloma gatunkami drzew i krzewów, np. *Quercus robur*, *Carpinus betulus*, *Quercus petraea*, *Corylus avellana*, *Fagus sylvatica* i *Tilia cordata*.

W owocnikach trufli rozwijają się bakterie, drożdże i grzyby strzępkowe. Mają one wpływ na rozwój owocników i proces dojrzewania, jak i na wydzielany przez trufle zapach. Intensywny aromat trufli wabi duże i małe zwierzęta leśne ((jelenie, dziki, myszy, wiewiórki), które są wektorem trufli. Niektóre gatunki owadów, jak np. *Suillia gigantea*, *Leiodes cinnamomea*, *Bolbelasmus unicornis* koewoluowały wraz z truflą letnią.

Znajomość relacji i związków łączących trufle z innymi organizmami jest kluczowa dla poznania strategii życiowej tych wyjątkowych workowców.

Partners of summer truffle (*Tuber aestivum* Vittad.)

Aleksandra Rosa-Gruszecka^{1*}, Dorota Hilszczańska²,

Hanna Szmidla¹, Katarzyna Sikora¹

¹Department of Forest Protection, ²Department of Forest Ecology

Forest Research Institute, 3 Braci Leśnej St., Sękocin Stary, PL-05-090 Raszyn

phone: 48 227 150 353, fax: 48 227 150 557, *A.Rosa@ibles.waw.pl

Truffles (*Tuber* spp.) are hypogeous fungi growing in symbiosis with a broad diversity of gymnosperm and angiosperm hosts in variety of habitats. The fungi are ascomycetes belonging to *Pezizales*, a large group of

ectomycorrhizal fungi. In almost every developing stage truffles are connected to another life forms including plants, animals and microbes. Several members of the true truffle genus *Tuber* are highly appreciated as delicacies. One of these species is *Tuber aestivum* Vittad.(summer truffle) which is found throughout Europe. *T. aestivum* forms ectomycorrhizal symbioses with many different species, including *Corylus avellana*, *Quercus robur*, *Fagus sylvatica*, *Tilia cordata* and *Pinus nigra*.

In mycorrhizal symbiosis acts as well a wide community of soil bacteria with potential unfavorable, neutral and beneficial consequences. Some of the bacteria grow within truffle fruiting bodies accompanied by yeasts and filamentous fungi, that are presumably involved in ascocarp nutrition, development and maturation as well as spore dispersal. In addition they may have an active role in production of volatiles. The volatiles emitted from fruit bodies attract mycophagies which play a key role in truffles' spore dispersion and mycelium propagation. In multiple dispersal strategies of truffles are engaged large (deer, wild board) and small (mice, squirrels) animals. Some insects, such as: *Suillia gigantea*, *Leiodes cinnamomea*, *Bolbelasmus unicornis* coevolved in relationship with summer truffles.

Knowledge of the mutualistic relationship between truffles and other organisms is crucial for understanding the propagation strategies of the outstanding ascomycete fungi.

Degradacja 4-*n*-nonylofenolu przez *Metarhizium robertsii*

Sylwia Różalska, Adrian Soboń, Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Postępujące zanieczyszczenie środowiska powoduje przedostawanie się do ekosystemów substancji o działaniu modelującym układ hormonalny, zarówno ludzi jak i zwierząt. Związki te działają w dwojaki sposób – poprzez naśladowanie w organizmie endogennych hormonów lub też blokowanie ich funkcji. Jednym z przykładów tego typu substancji jest nonylofenol, który przedostaje się do środowiska naturalnego jako produkt degradacji etoksylenowanych nonylofenoli (NPEOs), powszechnie stosowanych, jako składniki m.in. środków powierzchniowo czynnych, farb, lakierów, kosmetyków. Ze względu na swoją budowę i właściwości fizyko-chemiczne nonylofenol stanowi poważne zagrożenie dla organizmów żywych, gdyż długo utrzymuje się w środowisku, jest trudno eliminowany, jak również akumulowany w błonach komórkowych. W związku z poważnym zagrożeniem dla środowiska naturalnego, w ostatnich latach prowadzi się intensywne badania dotyczące mikrobiologicznej eliminacji tego ksenobiotyku. Biodegradacja NP przez mikroorganizmy nie została jak dotąd dobrze poznana, gdyż jest to wieloetapowy i długotrwały proces zależny od wielu czynników.

W prezentacji zostanie przedstawiona degradacja 4-*n*-nonylofenolu (4-*n*-NP) przez grzyb *Metarhizium robertsii*, który posiada zdolność do szybkiej

utylicacji tego ksenobiotyku. Badany substrat, dodawany do hodowli w stężeniu 50 mg/l, już po 24 h inkubacji był usuwany w 90%, natomiast po 3 dniach inkubacji, nie stwierdzono obecności badanego modulatora hormonalnego w ekstraktach pochodowlanych. Jednocześnie, zostanie przedstawiony szlak degradacji tego związku (dzięki zastosowaniu analizy GC-MS/MS) w powiązaniu z identyfikacją kilkunastu metabolitów. Obecność pierwszych produktów degradacji zaobserwowano już w 6 godzinie inkubacji, natomiast po 72 h nie stwierdzono występowania żadnych metabolitów w podłożu pochodowlanym. Otrzymane wyniki wskazują, że badany szczep *M. robertsii* jest zdolny do bardzo wydajnej degradacji 4-*n*-NP i może brać udział w usuwaniu tego ksenobiotyku w środowisku naturalnym.

Praca finansowana z Grantu Narodowego Centrum Nauki w Krakowie (projekt nr. UMO-2011/01/B/NZ9/02898).

4-*n*-nonylofenol degradation by *Metarhizium robertsii*

Sylvia Różalska, Adrian Soboń, Jerzy Długoński

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology

Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz

12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź

The progressive environmental pollution causes introduction to the ecosystems of many harmful substances. Endocrine disrupting compounds (EDCs) are chemicals mimicking or blocking endogenous hormone systems in both humans and animals. They usually act as normal hormones causing adverse reproductive, neurological, developmental or immune effects. Nonylphenol (NP) is a ubiquitous pollutant classified as an EDC. This compound enters the environment as a degradation product of a widely used nonionic surfactant nonylphenol ethoxylate (NPEO), which is commonly used as ingredients in paints, varnishes or cosmetics. The structure of NP and its physico-chemical properties causes serious threats to all living organisms, because it persists in the environment, is resistant to elimination and commonly accumulated in cell membranes because of its lipophilic properties. In a recent years, due to a serious threat posed by NP to environment, intensive scientific studies concerning microbiological elimination of this xenobiotic were conducted. NP biodegradation by microorganisms is still not fully understood, because of the complicity and depend on many external factors and processes.

Degradation of 4-*n*-nonylphenol (4-*n*-NP) by filamentous fungus *Metarhizium robertsii* will be presented. This fungus possesses the ability of fast and efficient utilization of this xenobiotic. The tested substrate, added to the cultures in the concentration 50 mg/L, was removed in 90% after 24h of incubation. After 3 days of incubation this EDC was not detected in cultures extracts. Simultaneously, a degradation pathway, including several new metabolites identified using GC-MS/MS analysis will be presented. The presence of first degradation metabolites of 4-*n*-NP were detected at 6h of incubation, while products were not found in post culture medium at 72h of

incubation. The obtained results indicated that the tested *M. robertsii* strain possesses an ability of very efficient degradation of 4-*n*-NP and may be involved in decontamination of the natural environment.

**Zróżnicowanie zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych:
od pierwszych opisów mykoryz przez Kamińskiego i Franka
do ery badań molekularnych**

Maria Rudawska*, Tomasz Leski, Marcin Pietras, Leszek Karliński
Pracownia Badania Związków Symbiotycznych, Instytut Dendrologii PAN
ul. Parkowa 5, 62-035 Kórnik; *mariarud@man.poznan.pl

Symbioza ektomykoryzowa jest obligatoryjnym związkiem korzeni oraz grzybów i występuje u większości *gatunków drzew* lasotwórczych o dużym znaczeniu gospodarczym, panujących lub współpanujących w drzewostanach strefy umiarkowanej i borealnej półkuli północnej. Większość grzybów tworzących symbiozę ektomykoryzową to grzyby podstawkowe, z nieco mniejszym udziałem grzybów workowych i jednym rodzajem *Endogone* należącym do Zygomycota. Ostatnie szacunki wskazują, że liczba partnerów grzybowych tworzących ektomykoryzy może sięgać nawet 20 000 gatunków.

Pionierskie badania w dziedzinie mykoryz wykonał polski botanik Franciszek Dionizy Kamiński (1851-1912), który zjawisko funkcjonalnej zależności pomiędzy korzeniami i grzybami zaobserwował u rośliny bezzieleniowej - korzeniówki (*Monotropa hypopitys* L.), a wyniki swoich badań opublikował w 1882 roku. Trzy lata później, w roku 1885 fitopatolog niemiecki Albert Bernhard Frank (1839-1900) zaproponował dla tego zjawiska termin „mykoryza” a także przeprowadził szeroko zakrojone obserwacje występowania ektomykoryz u drzew oraz postawił hipotezę o odżywianiu się drzew poprzez ektomykoryzy. Poprzez niemal cały XX wiek badano ektomykoryzy u różnych roślin, stosując do ich identyfikacji metody morfologiczne, opierające się na wyglądzie mykoryz oraz obserwacji towarzyszących im owocników. Do rozwoju metod oceny ektomykoryz na podstawie cech morfologiczno-anatomicznych znacząco przyczynił się polski badacz Tadeusz Dominik, autor klucza opublikowanego w 1959 roku. Badania ektomykoryz w oparciu o ich cechy morfologiczno-anatomiczne istotnie rozwinął badacz niemiecki Reinhard Agerer, autor *Colour Atlas of Ectomycorrhizae* (1987-2008). W ostatnich latach wielki przełom w identyfikacji partnera grzybowego z mykoryz dokonał się dzięki zastosowaniu metod molekularnych opartych na analizie grzybowego DNA. Metody te znacznie rozwinęły naszą wiedzę o zbiorowiskach grzybów ektomykoryzowych, a także pozwoliły na włączenie w poczet symbiontów grzybowych wielu gatunków o owocnikach niepozornych lub resupinatowych.

Diversity of ectomycorrhizal fungal communities: from early discovery of Kamienski and Frank to the increased understanding through the application of molecular techniques

Maria Rudawska*, Tomasz Leski, Marcin Pietras, Leszek Karliński
Laboratory of Symbiotic Associations, Institute of Dendrology
Polish Academy of Sciences
5 Parkowa St., PL-62-035 Kórnik; *mariarud@man.poznan.pl

Ectomycorrhiza is the most important association for the principal tree species of the boreal and temperate forests of the northern hemisphere. Ectomycorrhizal (ECM) fungi are extremely widespread in a great diversity of habitats and soils. The estimated number of species of ECM fungi ranges from 5000 to more than 20,000, most of which are basidiomycetes and ascomycetes with very few zygomycetes.

Mycorrhizal plants have attracted the curiosity of mycologists and botanists since the beginning of the 19th century. The important event in the discovery of mycorrhiza was the publication of works of Polish mycologist Franciszek Kamienski's (1882) who described and illustrated a 'glove' of fungal tissue on the surface of *Monotropa hypopitys* L roots and concluded that *Monotropa* is nourished by a fungus connected to tree roots. Over 100 years passed before fungal partner on *M. hypopitys* has been morphologically identified species in the genus *Tricholoma*. In 1885 German forest pathologist Albert Bernard Frank in his study of soil microbial-plant relationships, introduced the Greek term 'mycorrhiza', which literally means 'fungus roots' and originates from the Greek mycos, meaning 'fungus' and rhiza, meaning 'root'. The pioneering work of Frank also resulted in the identification of two broad subdivisions of mycorrhiza, ectomycorrhiza and endomycorrhiza, generally acknowledged till now. His paper in 1885 was the first general account of mycorrhiza. Frank recognized that mycorrhizal colonization was widespread among several forest tree species, including Scots pine, Norway spruce, European larch, European beech, oaks etc. He also showed (1894) that the mycorrhizal symbiosis was beneficial for fungi and trees and increased the growth of the host plant. In the following years, the ectomycorrhizal relationship of different forest tree species was the subject of detailed morphological and anatomical studies. In those time it was already well known that mushrooms, toadstools and truffles in natural habitats tended to be associated with particular trees but fungal partner of ectomycorrhiza was mostly identified on the basis of above-ground fruiting bodies appearance. Ectomycorrhizas has been determined less frequently, only on the basis of morphological and anatomical features, leading to the distinguishing the ectomycorrhizal types but occasionally fungal species. The special key to ectomycorrhizal types has been provided first by Melin in Sweden and subsequently by Dominik (1959 and 1962) in Poland and made available a framework upon which description of the morphologically different types of ectomycorrhizas and their frequency in any habitat could be possible. This system has been successfully used by Polish mycologist R. Pachlewski (1950-1965) in describing ECM communities on different sites and in different forest associations in Poland. In the following years a concerted effort has

been consequently applied by Agerer (1987-2008) and Ingleby (1990) to identify particular ECM fungal species directly from root tip material on the basis of hyphal morphology observed on and in the fungal mantle and the mycelial connection to an identified fruiting body. However the application of this method to large field collections of root material for determination of ECM fungal species diversity is not practical as extremely time-consuming and often not conclusive or accurate.

Since early 1990s studies on ecology and function of ECM fungi have been benefiting from the advent of the molecular techniques utilizing DNA. This methods evolved rapidly to address fundamental question about the diversity of community structure of ECM fungi. Results from these studies have revealed that ECM communities are extremely diverse and are patchily distributed at a fine scale below ground. Poor correspondence has been found between fungi that appear dominant as fruiting bodies vs. those that appear dominant on roots. Molecular methods made also possible determination of many ECM fungal species with inconspicuous, very often resupinate fruiting bodies. Some examples of results obtained in our lab on the basis of molecular analysis will be presented.

Grzyby mikroskopijne związane z roślinami zbiorowisk torfowiskowych – rola ochrony siedliskowej w zachowaniu micromycetes

Małgorzata Ruskiewicz-Michalska^{1*}, Małgorzata Stasińska²

¹Katedra Algologii i Mykologii, Uniwersytet Łódzki

ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź, *mrusz@biol.uni.lodz.pl

²Katedra Botaniki i Ochrony Przyrody, Uniwersytet Szczeciński

ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin; stasinsk@univ.szczecin.pl

Grzyby, jako reducenty i symbionty, biorą aktywny udział w obiegu materii, w tym w udostępnianiu roślinom węgla i innych pierwiastków biogenych, a ich rola jest szczególnie ważna w ekosystemach torfowiskowych. Polskie badania fungi torfowisk (większość na Pomorzu Zachodnim, w Polsce środkowej i w parkach narodowych m.in. Bory Tucholskie PN i Biebrzańskim PN) wskazują na dużą różnorodność biologiczną grzybów saprotroficznych (w tym glebowych) i symbiotycznych (głównie mykoryzowych) tych siedlisk. Na tle tych danych stosunkowo niewiele wiadomo o grzybach pasożytniczych, zwłaszcza z grupy micromycetes. Publikowane dane pochodzą głównie z torfowisk wysokich w parkach narodowych: Białowieskim PN (Majewski 1971) i Poleskim PN (Mułenko 1988a, b). Stosunkowo słaby jest także stopień poznania micromycetes poza Polską: dominują badania o charakterze mikrobiologicznym, dotyczące głównie grzybów biorących udział w rozkładzie torfowców.

Mimo stosunkowo ubogiej flory torfowisk, wstępne badania własne nad micromycetes kilkunastu obiektów (torfowiska wysokie i przejściowe) na Pomorzu Zachodnim, w Polsce środkowej i w Biebrzańskim Parku Narodowym wykazały, że bogactwo gatunkowe i zróżnicowanie

taksonomiczne tych grzybów jest duże. Łącznie zidentyfikowano 76 gatunków, głównie workowców i ich anamorf (85 % całości), związanych z 27 gatunkami roślin. Kilka z tych grzybów to gatunki bardzo rzadkie, znane z pojedynczych okazów i stanowisk na świecie. Do pospolitych, obserwowanych na każdym z badanych obiektów, można zaliczyć *Erysiphe ornata* var. *europaea* (na *Betula pubescens* i *B. pendula*). Do bardzo częstych w zbiorowiskach torfowiskowych, ale rzadkich w Polsce należą: *Exobasidium rostrupii* (na *Oxycoccus palustris*), *E. sundstroemii* i *Rhytisma andromedae* (oba na *Andromeda polifolia*). Grzyby te, podobnie jak rzadsze od nich *Chrysomyxa ledi* (na *Ledum palustre*) i *Exobasidium karstenii* (na *Andromeda polifolia*), są związane z gospodarzami rosnącymi wyłącznie na torfowiskach, a więc ich przetrwanie warunkowane jest zachowaniem tego typu ekosystemów. O rozmieszczeniu większości z pozostałych stwierdzonych gatunków nie wiadomo wystarczająco wiele, aby móc wnioskować o ich pospolitości/rzadkości, jednak i w przypadku tych grzybów znaczenie ochrony siedliskowej torfowisk jest równie niezaprzeczalne.

Plant-associated fungi at peatlands – the role of habitat protection in micromycetes conservation

Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska^{1*}, Małgorzata Stasińska^{2**}

¹Department of Algology & Mycology, University of Łódź,
12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź; *mrusz@biol.uni.lodz.pl

²Department of Botany & Nature Conservation, University of Szczecin
3c Felczaka St., PL-71-412 Szczecin; **stasinsk@univ.szczecin.pl

Fungi, as reducers and symbionts, actively participate in the circulation of matter and their role is particularly important for peatland ecosystems. Polish studies of peatland fungi (mostly in western Pomerania, central Poland, as well as in Bory Tucholskie and Biebrza national parks) indicate the high biodiversity of symbiotic (mainly mycorrhiza-forming) and saprotrophic fungi (including soil-inhabiting species) in these habitats. In contrast, relatively little is known about parasitic fungi, in particular from the micromycete group. The published data on these fungi come mainly from raised bogs in the national parks: Białowieża NP (Majewski 1971) and Polesie NP (Mułenko 1988a, b). Plant-associated micromycetes of peatlands are also relatively less studied outside Poland. The greatest interest concerns microbiological studies, mainly the fungi involved in peat decomposition.

Despite the relatively poor flora of peatlands, preliminary studies of micromycetes showed that species richness and taxonomic diversity of these fungi is high. Over a dozen raised and transitional bogs in Western Pomerania, central Poland and the Biebrza National Park were surveyed. Altogether 76 species, mainly ascomycetes and their anamorphs (85% of total number of taxa), associated with 27 plant species were recorded. Several of these fungi are very rare and known from single specimens and localities in the world. To the most common fungi at peatlands (observed on each of the studied bogs) belongs *Erysiphe ornata* var. *europaea* (on *Betula pubescens* *B. pendula* and *B.*

humilis). Fungi very common in those communities, but rare in Poland include: *Exobasidium rostrupii* (on *Oxycoccus palustris*), *E. sundstroemii* and *Rhytisma andromedae* (both on *Andromeda polifolia*). These fungi, as well as less common *Chrysomyxa ledi* (on *Ledum palustre*) and *Exobasidium karstenii* (on *Andromeda polifolia*), are associated with the hosts only growing in peat bogs. Thus, their survival is conditioned by the preservation of this type of ecosystem. The distribution of most of the other species found is less known at a local and global scale and the conclusions about their commonness / rarity cannot be drawn yet. However, in the case of fungi inhabiting peatland plants the importance of habitat protecting is undeniable.

**Czy grzyby z płytko umiejscowioną grzybnią są na terenach
wysokogórskich ofiarami zanieczyszczenia środowiska rtęcią
pochodzącą ze światowego opadu atmosferycznego?**

Martyna Saba¹, Jipeng Wang², Dan Zhang², Jerzy Falandysz¹

¹Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

²Institute of Mountain Hazards and Environment, Chengdu, Sichuan, China

Badania miały na celu zweryfikowanie hipotezy, że grzyby żyjące w strefie wysokogórskiej góry Gongga (Minya Konka), leżącej we wschodniej części Płaskowyżu Tybetańskiego, mogą zawierać rtęć w ilości wskazującej na globalne zanieczyszczanie środowiska tym metalem. Do badań pozyskano okazy dwóch grzybów saprotroficznych *Gymnopus erythropus* i *Marasmius dryophilus*, tworzących czarcie kręgi z grzybnią żyjącą płytko w ściółce oraz gatunki jadalne, których grzybnia żyje głębiej w podłożu – takie jak *Cortinarius bovinus*, *C. collinitus*, *Leccinum scabrum*, *L. varricolor*, *Russla grisea*, *R. puellaris* i *Tricholoma pessundatum* oraz trującego *Hygrophorus conicus*. Badano też ściółkę i/lub podłoże glebowe wymienionych gatunków grzybów.

Okazy *G. erythropus* i *M. dryophilus*, ściółkę i glebę pozyskano z lasu na wysokości 2946 m nad poziomem morza, a pozostały materiał ze strefy wysokogórskiej (> 2300 m n.p.m.) z wschodniego zbocza góry Gongga (101° 53' E, 29° 36' N; 7556 m n.p.m.) w 2012 r. Góra i szczyt Gongga z uwagi na położenie geograficzne, himalajski rozmiar, lodowce, zimny klimat i ilość mokrego opadu atmosferycznego wydaje się rejonem preferencyjnego nagromadzania trwałych zanieczyszczeń, a w tym i rtęci, emitowanych do atmosfery w skali globalnej – głównie nanoszonych znad rejonów uprzemysłowionych i zurbanizowanych Azji wschodniej, południowo-wschodniej (głównie Chiny) i południowej (Indie).

Owocniki *G. erythropus* i *M. dryophilus* cechowała względnie duża zawartość Hg, jak na populacje grzybów z miejsc bardzo odległych od terenów uprzemysłowionych. Dostępne do badań jadalne gatunki grzybów z góry Gongga cechowała znacznie mniejsza zawartość Hg niż wykazano dla *G. erythropus* i *M. dryophilus*, a zawartość tego pierwiastka w owocnikach *H. conicus* była podobna jak u *M. dryophilus*.

Miejsce, w którym żyje i rozwija się grzybnia (głębokość w podłożu) dla

gatunków nietworzących ryzomorf wydaje się głównym źródłem pobrania i nagromadzenia rtęci w owocnikach. Grzyby z grzybnią żyjącą płytko w podłożu (ściółka, humus) są bardziej narażone na rtęć pobieraną w nadmiernej ilości w związku z zanieczyszczaniem środowiska przyrodniczego tym metalem, niż by to mogło wynikać z tła geochemicznego tego pierwiastka. Grzyby z grzybnią żyjącą głębiej w podłożu (glebie) na górze Gongga wydają się jak dotąd mniej narażone na rtęć pochodzącą ze źródeł antropogenicznych – deponowaną do ściółki i zawartą w opadających liściach oraz warstwie humusu niż gatunki wytwarzające grzybnię płytko w ściółce. Niemniej cechy gatunkowe (genetyczne decydujące o składzie chemicznym owocników) mogą sprzyjać lub nie bionagromadzaniu rtęci w owocnikach przez dany gatunek grzyba.

Are mushrooms with shallow mycelia at high mountains victims of environmental pollution with mercury from global fallout?

Martyna Saba¹, Jipeng Wang², Dan Zhang², Jerzy Falandysz¹

¹Faculty of Chemistry, University of Gdańsk

63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

²Institute of Mountain Hazards and Environment, Chengdu, Sichuan, China

Mercury (Hg) is known as a metallic element that is prone to long-range atmospheric transport. Exploitation of Hg for industrial, agricultural, military, medicinal and domestic purposes and the releases due to fuel combustion are among factors responsible for the elevated Hg concentrations in the environment in recent decades (UNEP 2013). In the terrestrial environment, wild-grown mushrooms are organisms that often contain Hg at elevated concentrations in flesh (Drewnowska et al. 2012; Falandysz and Brzostowski 2007). In the Tibetan plateau, atmospheric depositions are the primary mechanism of contamination with Hg from major global emitters (Fu et al. 2008; Zhang et al., 2008).

This study aimed at gaining an insight into the accumulation and distribution of total Hg in fruiting bodies of two species of mushrooms (*Gymnopus erythropus* and *Marasimus dryophilus*) that emerged in fairy ring from a remote place of Mt. Gongga at the Eastern Tibetan plateau and in edible mushrooms such as *Cortinarius bovinus*, *C. collinitus*, *Leccinum scabrum*, *L. varicolor*, *Russla grisea*, *R. puellaris*, and *Tricholoma pessundatum* and in poisonous *Hygrophorus conicus*, and litter and soils beneath to them. Mushrooms *G. erythropus* and *M. dryophilus* have shallow mycelia and mycelia of the other species investigated live deeper in the soil. It is expected that the deposition of airborne Hg in the sub-apline region of the Gongga Mt. should reflect on the fruit bodies of mushrooms from there.

Total Hg content of the materials were determined by cold-vapour atomic absorption spectroscopy after direct sample matrix combustion (Jarzyńska and Falandysz 2011).

Airborne Hg seems to be the major source of contamination in litter, surface layer of soils and litter decomposing fungi. The Hg levels observed at Gongga Mt. imply that there is an enhanced Hg deposition from the

atmosphere there. Mercury is found in higher amounts in wild grown mushrooms compared to plant foods. Because edible wild-grown mushrooms are traditionally collected by people inhabiting Gongga Mt. and the nearby regions, this area seems to experience enhanced deposition of Hg from global atmospheric fallout (largely from the Asian continent). The outcome of this study shows that more research is needed to understand the status of Hg contamination of mushrooms and other organic foods consumed there (edible mushrooms, berries, plants and herbs).

Drewnowska M., Jarzyńska G., Sapór A., Nnorom I.C., Sajwan K.S. & Falandysz J. 2012. Mercury in *Russula* mushrooms: bioconcentration by yellow-ocher brittle gills *Russula ochroleuca*. Journal of Environmental Science and Health, A, 47: 1577-1591.

Falandysz J. & Brzostowski A. 2007. Mercury and its bioconcentration factors in Poison Pax (*Paxillus involutus*) from various sites in Poland. Journal of Environmental Science and Health, A, 42: 1095-1100.

Fu X., Feng X., Zhu W., Wang S. & Lu J. 2008. Total gaseous mercury concentrations in ambient air in the eastern slope of Mt. Gongga, South-Eastern fringe of the Tibetan plateau, China. Atmospheric Environment, 42: 970-979.

Jarzyńska, G. & Falandysz J. 2011. The determination of mercury in mushrooms by CV-AAS and ICP-AES techniques. Journal of Environmental Science and Health, A, 46: 569-573.

UNEP, (2013). Mercury – time to act. United Nations Environmental Programme, 2013. http://www.unep.org/PDF/PressReleases/Mercury_TimeToAct.pdf.

Zhang H., Yin R-S., Feng X-B., Sommar J., Anderson C.W.N., Sapkota A., Fu X-W. & Larssen T. 2013. Atmospheric mercury inputs in montane soils increase with elevation: evidence from mercury isotope signatures. Science Reports, 3, 3322; DOI:10.1038/srep03322.

Wpływ tributyllocyny (TBT) na błony lipidowe szczepu grzybowego *Metarhizium robertsii*

Paulina Siewiera^{1,2}, Przemysław Bernat², Jerzy Długoński²

¹Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

²Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Wstęp. Dwuwarstwa lipidowa skonstruowana jest w większości z fosfolipidów, które pełnią funkcje strukturalne i odgrywają ważną rolę w przekazywaniu sygnałów. Fosfolipidy i ich komponenty, czyli kwasy tłuszczowe mogą ulegać modyfikacjom pod wpływem związków lipofilnych. Tributyllocyna (TBT) – związek cynoorganiczny o działaniu przeciwporostowym – jest zaliczana do tej grupy. Jednym z mechanizmów oporności drobnoustrojów wobec TBT mogą być zmiany w profilu fosfolipidowym grzybni.

Cel. Celem przeprowadzonych badań było określenie zmian zachodzących w profilu fosfolipidowym komórek poddanych ekspozycji na TBT. Badania przeprowadzono z użyciem mikroskopowego grzyba strzępkowego *Metarhizium robertsii* IM 6519.

Materiały i metody. Hodowlę szczepu *M. robertsii* prowadzono przez 5 dni

na podłożu Sabouraud, zarówno z dodatkiem TBT (5 i 10 mg/L) oraz bez niego. Próby do analizy fosfolipidów przygotowano według zmodyfikowanej metody Folcha. Analizę jakościową i ilościową wyekstrahowanych fosfolipidów wykonano z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC)-MS/MS.

Wyniki. Najliczniejszymi klasami fosfolipidów błonowych szczepu *M. robertsii* są fosfatydylocholino (PC) oraz fosfatydyloetanolaminy (PE). TBT indukuje wzrost poziomu PC i spadek zawartości pozostałych klas, czyli PE, kwasu fosfatydowego (PA), fosfatydyloserynu (PS) i fosfatydyloinozytolu (PI). Z kolei, kwasami tłuszczowymi dominującymi w błonie są: kwas palmitynowy (C16:0) i stearynowy (C18:0) – wśród nasyconych oraz oleinowy (C18:1) i linolowy (C18:2) – wśród nienasyconych. W odpowiedzi na ksenoestrogen, wzrasta poziom desaturacji kwasów tłuszczowych w strzępkach grzybowych.

Wnioski. Tributyllocyna wywołuje zmiany zawartości poszczególnych klas i gatunków fosfolipidów oraz stopnia nasycenia kwasów tłuszczowych, które mogą stanowić odzwierciedlenie mechanizmów obronnych.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w Krakowie, Polska, (Projekt nr UMO-2011/01/B/NZ9/02898).

Influence of tributyltin (TBT) on lipid membranes of fungal strain

Metarhizium robertsii

Paulina Siewiera^{1,2}, Przemysław Bernat², Jerzy Długoński²

¹Biotechnology and Microbiology Students Society “Bio-Mik”

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz

²Department of Industrial Microbiology and Biotechnology

Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź

12/16 Banacha St., PL-90-231 Łódź

Introduction. The lipid bilayer is constructed mostly of phospholipids which have structural functions and play an important role in signal transmission. Phospholipids and their components, i.e. fatty acids may be modified under the influence of lipophilic compounds. Tributyltin (TBT) – organotin compound with anti-fouling activity – is classified in this group. One of the mechanisms of microbial resistance to TBT may be changes in the phospholipid profile of the mycelium.

Aim. The aim of this study was to determine the changes in phospholipid profile of cells exposed to TBT. Studies were conducted using the microscopic filamentous fungus *Metarhizium robertsii* IM 6519.

Materials and methods. Culture of the strain *M. robertsii* maintained for 5 days on Sabouraud medium without and with TBT addition (5 and 10 mg/l). The samples for the analysis of phospholipids prepared according to the modified method of Folch. Qualitative and quantitative analysis of extracted phospholipids were performed using high performance liquid chromatography (HPLC)-MS/MS.

Results. The most abundant classes of membrane phospholipids of *M.*

robertsii strain are phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE). TBT induces an increase of PC level and a decrease of other classes content, i.e., PE, phosphatidic acid (PA), phosphatidylserine (PS) and phosphatidylinositol (PI). On the other hand, the dominant fatty acids in the membrane are: palmitic acid (C16:0) and stearic acid (C18:0) – among the saturates and oleic (C18:1) and linoleic (C18:2) – among the unsaturated. In response to xenoestrogen, fatty acid desaturation level in fungal hyphae increased.

Conclusion. Tributyltin causes changes in the content of particular classes and species of phospholipids and the degree of saturation of fatty acids, which may be reflection of defense mechanisms.

This study was supported by the National Centre for Science in Krakow, Poland (Project No. UMO-2011/01/B/NZ9/02898).

**Mechanizmy wiązania cynku i ołowiu przez grzyb strzępkowy
Paecilomyces marquandii w czasie wzrostu na bogatym podłożu
i w warunkach głodowych**

Mirosława Słaba, Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i
Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Mikrobiologiczne usuwanie metali ciężkich jest obiecującą i obecnie intensywnie badaną metodą oczyszczania środowiska. Mikroskopijne grzyby strzępkowe są grupą mikroorganizmów charakteryzującą się dużymi możliwościami adaptacyjnymi i przez to często osiągają wysoką tolerancję na różne toksyczne związki. Dzięki różnorodności wytwarzanych enzymów, często zewnątrzkomórkowych, mogą przyswajać różne źródła węgla i osiągać duży przyrost biomasy. Poznanie mechanizmów warunkujących tolerancję oraz eliminację metali ciężkich jest bardzo istotne z punktu widzenia ich środowiskowych aplikacji.

Szczep *P. marquandii* został wyizolowany z odpadów po flotacyjnych ze Śląska i jak wykazały wcześniejsze badania posiada dużą tolerancję na związki cynku i ołowiu (Słaba et al. 2005).

W pracy określono, jakie oddziaływania grzyba z metalami są odpowiedzialne za efektywne wiązanie cynku i ołowiu w grzybni odmytej od podłoża, które wynoszą odpowiednio 186,2 i 305,8 mg/g. Zastosowanie metody dyfraktometrii rentgenowskiej (XRD) w połączeniu z porównaniem widm wzorców i prób badanych w podczerwieni (FTIR) ujawniło obecność hydroksywęglanów cynku (hydrozincyt: $\text{Zn}_5(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_6$) i ołowiu (hydrocerusit: $\text{Pb}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$) (Słaba, Długoński 2011). Uzyskane wyniki świadczą o tym, że mikroprecypitacja metali w postaci hydroksywęglanów, związanych z powierzchnią grzybni odpowiada za efektywne wiązanie metali w warunkach głodowych.

Następnie w prezentacji będą przedstawione uwarunkowania istotne dla wyjaśnienia mechanizmu wiązania cynku i ołowiu w czasie wzrostu na bogatym podłożu (Słaba et al. 2013a; Słaba et al. 2013b; Słaba et al. 2009).

Praca była finansowana w ramach grantu z Narodowego Centrum Nauki w Krakowie (nr UMO-2011/01/B/NZ9/02898).

Mechanisms of zinc and lead uptake by *Paecilomyces marquandii* growing in the rich medium and under starvation conditions

Mirosława Słaba, Jerzy Długoński

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź
12/16 Banacha St., PL-90- 237 Łódź

Microbiological elimination of heavy metals is a promising and intensively studied method for cleaning environment. Microscopic filamentous fungi represent group of microorganisms characterized by high adaptive possibilities, which enable the growth in the presence of different toxic compounds. Due to the variety of produced enzymes, often extracellular, fungi can metabolize different sources of carbon achieving an intensive rise in biomass. Recognition of the mechanisms determining tolerance and heavy metals elimination is very important for their environmental applications.

P. marquandii strain was isolated from postflotation tailings from Silesia (Poland). Our previous work showed its high tolerance to zinc and lead compounds (Słaba et al. 2005).

In the present work the interactions of fungus with the metals responsible for effective zinc and lead uptake in mycelium, reaching respectively 186.2 and 305.8 mg/g, under starvation conditions were studied. The application of the X-ray diffraction method (XRD) and the comparison of standards and samples spectra in Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) revealed the presence the metals hydroxycarbonates: hydrozincite ($\text{Zn}_5(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_6$) and hydrocerrusite $\text{Pb}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$) on the mycelium surface. The obtained results show that microprecipitation of the metals in the form of hydroxycarbonates bound with the mycelium surface is responsible for efficient metal uptake under starvation conditions (Słaba, Długoński 2011).

The zinc uptake during cultivation on rich Sabouraud was limited. Only ca. 10 mg of Zn^{2+} was accumulated in 1 g biomass. It might have been due to partial complexation of Zn^{2+} by fungal metabolites. Interestingly, an increase in zinc uptake up to 99 mg/g was caused by simultaneous toxic action of zinc and alachlor, a popular chloroacetanilide herbicide widely used in plant protection. The changes in fatty acids composition and saturation, membrane building phospholipids were probably responsible for enhanced zinc accumulation. Additionally, alachlor affected the cell wall. The deposition of zinc in the fungal cell wall rose from 15-20 % to 60 % after mated application (Słaba et al. 2009).

Toxicity of lead to *P. marquandii* manifested by lipid peroxidation and enhanced membrane permeability is involved in lead accumulation inside the mycelium (105 mg/g of mycelium dry weight). However the in case of lead, the cell wall is responsible for efficient lead removal from rich medium (95 %)

(Słaba et al. 2013a, b, 2009).

This study was supported by the National Science Centre in Cracow, Poland (Project No. UMO-2011/01/B/NZ9/02898).

Słaba M., Bizukojć M., Pałecz B., Długoński J. 2005. Kinetic study of toxicity of zinc and lead ions to the heavy metals accumulating fungus *Paecilomycesmarquandii*. Bioprocess and Biosystems Engineering, 28: 185-197.

Słaba M., Długoński J. 2011. Efficient Zn^{2+} and Pb^{2+} uptake by filamentous fungus *Paecilomyces marquandii* with engagement of metal hydrocarbonates precipitation. International Biodeterioration and Biodegradation. 65: 954-960.

Słaba M., Gajewska E., Bernat P., Fornalska M., Długoński J. 2013a. Adaptive interactions in the fatty acids composition under induced oxidative stress in heavy metal-tolerant filamentous fungus *Paecilomyces marquandii* cultured in ascorbic acid presence. Environmental Science and Pollution Research. 20: 3423-34.

Słaba M., Bernat P., Różalska S., Nykiel J., Długoński J. 2013b. Comparative study of metal induced phospholipid modifications in the heavy metal tolerant filamentous fungus *Paecilomyces marquandii* and the implication for membrane integrity. Acta Biochimica Polonica. 60: 695-700.

Słaba M., Szewczyk R., Bernat P., Długoński J. 2009. Simultaneous toxic action zinc and alachlor resulted in enhancement of zinc uptake by *Paecilomyces marquandii*. Science of Total Environment, 407: 4127-4133.

***Russula torulosa* (Basidiomycota: Russulales), nowy dla Polski gatunek gołąbka**

Małgorzata Stasińska*, Zofia Sotek

Katedra Botaniki i Ochrony Przyrody, Centrum Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Uniwersytet Szczeciński, ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin;

*stasinsk@univ.szczecin.pl

Gołąbek poduchowaty *Russula torulosa* Bres. należy do grzybów mykoryzowych, rośnie najczęściej pod sosnami m.in. *Pinus sylvestris* i *P. nigra*, rzadziej pod świerkami *Picea* spp., w lasach iglastych i mieszanych oraz na wydmach, zwykle na siedliskach suchych i glebach bogatych w wapń i krzem. Gatunek ten występuje z reguły na rozproszonych stanowiskach w Ameryce Północnej (Kanadzie, USA), Azji (Pakistanie) i Europie (m.in. w Austrii, Bułgarii, Danii, Francji, Niemczech, Rosji, Szwecji, Wielkiej Brytanii i we Włoszech).

W Polsce gołąbek poduchowaty dotychczas nie był notowany, pomimo występowania odpowiednich dla niego siedlisk. Podczas badań mykologicznych prowadzonych w Wolińskim Parku Narodowym w sierpniu 2012 i we wrześniu 2013 roku znaleziono kilka owocników gołąbka poduchowatego, rosnących pod sosnami, na wydmie szarej.

Russula torulosa, pomimo że należy do gatunków grzybów szeroko rozprzestrzenionych, to w wielu krajach jest uważana za takson rzadki i znajduje się na czerwonych listach grzybów m.in. w Danii (The Danish Red

***Russula torulosa* (Basidiomycota: Russulales), a new species
to Poland**

Małgorzata Stasińska*, Zofia Sotek

Department of Botany and Nature Conservation

Centre for Molecular Biology and Biotechnology, University of Szczecin

3c Felczaka St., PL-71-412 Szczecin; *stasinsk@univ.szczecin.pl

A brittlegill, *Russula torulosa* Bres., belongs to mycorrhizal fungi and grows most frequently under pine trees, among others *Pinus sylvestris* and *P. nigra*, rarely under spruces *Picea* spp., in coniferous and mixed forests and on sand dunes, usually in dry habitats and on calcium- and silica-rich soils. As a rule, it is being found at scattered locations in North America (Canada, USA), Asia (Pakistan) and Europe (e.g. Austria, Bulgaria, Denmark, France, Germany, Great Britain, Italy, Russia and Sweden).

In Poland, a brittlegill has not been reported so far, despite the habitats suitable for its occurrence here. During mycological investigations being carried out in the Wolin National Park in August 2012 and September 2013, a few fruiting bodies of brittlegill have been found, growing under pine trees on a grey dune.

Russula torulosa, despite the fact that it belongs to species being widespread, is considered a rare taxon in many countries and is found on the Red List of Fungi, among others in Denmark (The Danish Red Data Book 2014) and Russia (Bondartseva et al. 2000).

Bondartseva M.A., Zmitrovich I.V., Fomina E.A., Kovalenko A.E., Morozova O.V., Nezdoiminogo E.L., Novozhilov Yu.K. & Popov E.C. 2000. Species of the Red book - Leningrad region Красная книга природы Ленинградской области. Том 2. Растения и грибы. — СПб.: Мир и Семья, 672 с.

The Danish Red Data Book. 2014. http://www2.dmu.dk/1_Om_DMU/2_Tvaer-funk/3_fdc_bio/projekter/redlist/redlist_en.asp.

**Grzyby wielkoowocnikowe siedlisk leśnych Parku nad Starym Kanalem
Bydgoskim**

Natalia Stokłosa*, Izabela Kauwa, Justyna Nowakowska,

Barbara Kieliszewska-Rokicka

Katedra Mikologii i Mikoryzy, Instytut Biologii Środowiska

Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Al. Ossolińskich 12, 85-093 Bydgoszcz;

*n.głowska@ukw.edu.pl

Park nad Kanalem Bydgoskim położony jest w granicach miasta Bydgoszcz i zajmuje powierzchnię 47 ha. Jest to obszar o dużych walorach przyrodniczych, krajobrazowych i rekreacyjnych. Na terenie Parku wyróżniono 10 kompleksów zbiorowisk roślinnych z bogatą szatą roślinną, liczącą około 465 gatunków, co stanowi 50% flory miasta. Nie prowadzono

tam dotąd regularnych obserwacji grzybów. Celem tej pracy była inwentaryzacja grzybów makroskopowych rosnących w wybranych kompleksach leśnych Parku: grądu środkowoeuropejskiego *Galio sylvatici-Carpinetum* (1,2 ha) oraz łęgu wiązowo-jesionowego *Quercu-Ulmetum minoris* (1,4 ha). Badania prowadzone były od października 2011 do maja 2013 metodą marszrutową i objęły owocniki rosnące na powierzchni gleby, ściółce, martwym drewnie i na żywych drzewach. Określono grupę ekologiczno-troficzną każdego gatunku, status ochrony prawnej oraz kategorię zagrożenia, zgodnie z czerwoną listą grzybów w Polsce. Wykonano 25 obserwacji, które wykazały obecność 57 gatunków grzybów w kompleksie grądowym oraz 40 gatunków na siedlisku łęgowym. W mykobiocie obu kompleksów leśnych Parku dominowały gatunki saprotroficzne, przed mykoryzowymi i pasożytniczymi. W kompleksie grądu zidentyfikowano 3 gatunki podlegające ścisłej ochronie prawnej: *Geastrum striatum*, *G. floriforme* oraz *G. coronatum*. Dwa pierwsze mają status gatunków wymierających, natomiast *G. coronatum* uznawany jest za gatunek narażony na wyginięcie. Ponadto odnotowano gatunki: *Clavariadelphus fistulosus*, *C. junceus* oraz *Clitocybe hydrogramma*, które uznawane są za gatunki rzadkie.

Macrofungi in forested habitats of the Park at the Bydgoszcz Old Canal

Natalia Stokłosa*, Izabela Kauwa, Justyna Nowakowska,
Barbara Kieliszewska-Rokicka

Department of Mycology & Mycorrhiza, Kazimierz Wielki University,
12 Ossolińskich Av., PL-85-093 Bydgoszcz; *n.głowska@ukw.edu.pl

Park at the Bydgoszcz Old Canal is located inside the city of Bydgoszcz limits, and covers 47 ha. This area contains natural, landscape and recreation values. Ten plant complexes with a high plant biodiversity were distinguished in the Park. Currently, 465 species of trees and shrubs have been found there, what makes more than 50% of the total flora of the city of Bydgoszcz. We present here the results of the first inventory of macromycetes in the Park at the Bydgoszcz Old Canal. The aim of the study was to examine species composition of the macromycetes in two forest communities: an oak-hornbeam forest *Galio sylvatici-Carpinetum* (1,2 ha) and an elm-ash forest *Quercu-Ulmetum minoris* (1,4 ha). The investigation was conducted by route method since October 2011 to May 2013. Only epigenous fruit bodies formed on the soil, litter, dead wood, and living trees were considered. The fungal species were classified in three ecological groups: saprotrophs, ectomycorrhizal symbionts and parasitic fungi. Threat categories of species were defined and protected species were indicated. Fifty seven species of macromycetes in the oak-hornbeam forest and 40 species in the elm-ash forest were recorded. The analysis of ecological groups indicated domination of saprotrophic fungi, followed by mycorrhizal fungi and parasitic fungi. During the investigations three species under legal protection were found: *Geastrum striatum*, *G. floriforme* and *G. coronatum*. Six of the species recorded in the Park at the Bydgoszcz Old Canal are "Red-List" species in Poland: *G. striatum* and *G. floriforme* are en-

dangered species, *G. coronatum* is considered as vulnerable species, *Clavariadelphus fistulosus*, *C. junceus* and *Clitocybe hydrogramma* are rare species.

Wpływ cieczy jonowych na fizjologię *Candida albicans*

Jakub Suchodolski^{1*}, Joanna Feder-Kubis², Anna Krasowska¹

¹Zakład Biotransformacji, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski
ul. Joilot-Curie 14a, 50-383 Wrocław; *suchodolskikubus@gmail.com

²Zakład Inżynierii Chemicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska
ul. Norwida 4/6, 50-373 Wrocław

Candida albicans to patogenny grzyb z rzędu drożdżakowców powodujący rozwój zakażeń egzo- oraz endogennych u ludzi. Czynniki wirulencji *C. albicans* to m.in. zdolność do adhezji i tworzenia biofilmu na różnych podłożach oraz filamentacja w temperaturze fizjologicznej. Na przestrzeni lat nowo izolowane szczepy *C. albicans* stają się odporne na powszechnie stosowane leki, stąd konieczność poszukiwania nowych. Ponadto biofilm *C. albicans* charakteryzuje się większą lekoopornością niż formy wolno żyjące. Jedną z obiecujących klas związków pod względem grzybobójczości są ciecze jonowe, będące związkami o budowie jonowej i charakteryzujące się temperaturą topnienia poniżej 100°C. Związki te mają wiele zastosowań w tzw. zielonej chemii, ponieważ są biodegradowalne oraz bezpieczne dla ludzi, zwierząt i środowiska. Ponadto ciecze jonowe są aktywne m.in w walce przeciwko bakteriom, grzybom i pleśniam.

W pracy przebadano cztery ciecze jonowe imidazoliowe z podstawnikiem (1*R*,2*S*,5*R*)-mentolowym przeciwko pięciu szczepom *C. albicans*, które zostały pozbawione transporterów ABC. Otrzymane wyniki wskazały na silny potencjał cieczy jonowych jako środków grzybobójczych skierowanych przeciwko *C. albicans*. Już w bardzo niskich stężeniach wykazały właściwości zarówno grzybostatyczne, jak i grzybobójcze. Co więcej, zdolność zrywania powstałych na polistyrenie biofilmów oraz hamowanie filamentacji przedstawiły obiecujący kierunek dalszych badań nad cieczami jonowymi i ich wpływem na fizjologię i patogenezę *C. albicans*.

The influence of ionic liquids on *Candida albicans*' physiology

Jakub Suchodolski^{1*}, Joanna Feder-Kubis², Anna Krasowska¹

¹Faculty of Biotechnology, University of Wrocław
14a Joilot-Curie St., PL-50-383, Wrocław; *suchodolskikubus@gmail.com

²Faculty of Chemistry, Wrocław University of Technology
4/6 Norwida St., PL-50-373 Wrocław

Candida albicans is a pathogenic yeast-like fungus in the order Saccharomycetales that causes exogenous and endogenous infections in humans. *C. albicans*' virulence factors include, inter alia, its capability of adhering to different surfaces and forming biofilms. The latter virulence factor correlates with its ability to form hyphae in an environment, which mimics

physiological temperature of a human organism. *C. albicans* is only virulent in hyphal form. Over the years, newly isolated *C. albicans* strains exhibit a multi-drug resistance to a rising number of commonly used antifungal agents. Moreover, the biofilm formed by *C. albicans* is much more resistant to those agents than free-living cells thus, it is imperative to seek for new factors that may show activity against *C. albicans* viability and may suppress their adhesion to different surfaces or its morphological shift. Ionic liquids seem to fulfil this need. Those compounds are predominantly made of ions and the most characteristic feature is their melting point, which is below 100°C. Ionic liquids exhibit a great variety of activities and applications in green chemistry. The fact that they are biodegradable and safe for human, animals and the environment is an additional merit. What is more, their antimicrobial activities were proven against a variety of prokaryotes, fungi and molds.

In the present work, four different imidazolium-based ionic liquids with a (1*R*,2*S*,5*R*)-(-)-menthoxymethyl substituent were chosen for examination on a total amount of five *C. albicans* strains with different mutations. Those were *C. albicans* SC5314 (clinical isolate), *C. albicans* CAF2-1 and CAF4-2 (auxotrophic strains with a disrupted gene for uracil biosynthesis), *C. albicans* DSY653 and DSY1050 (strains with disrupted genes encoding Mdr and Cdr efflux pumps). Firstly, minimal inhibitory concentrations (MICs) and minimal fungicidal concentrations (MFCs) were determined. MICs values ranged from 3 to 9 mg/l, whereas MFCs values ranged between 4 and 13 mg/l. What is interesting, subinhibitory concentrations caused an almost total disappearance of hyphae forms after incubation at physiological temperature. Only ovoid, yeast-like cells were present. Both MICs and MFCs were tested in different temperatures: 28°C and 37°C. An interesting correlation was observed. Despite the fact, that ionic liquids inhibited the growth of hyphae form, the viability of cells treated with ionic liquids in 37°C was higher than in 28°C. A statistical analysis was performed to support this outcome. Another step was to form *C. albicans* biofilm on a polystyrene surface and incubate it for 2h with an addition of certain ionic liquid. Depending on strain and ionic liquid, the biofilm dislodgement ranged from 50 to 70% in regard to control assays nontreated by any ionic liquid.

Those results show a great potential of ionic liquids as alternative antifungal agents. Very low concentrations are capable of suppressing the growth of *C. albicans* or even killing it solely. Moreover, the ability of ionic liquids to dislodge biofilms formed on polystyrene surfaces and suppress morphological shift to hyphal growth exhibit a very promising direction of further research. This may cause a better understanding of the influence of ionic liquids on *Candida albicans* physiology and pathogenesis.

Lokalizacja tlenu azotu w korzeniach zmykoryzowanych poddanych toksycznemu działaniu Al lub Zn

Marzena Sujkowska-Rybikowska*, Wojciech Borucki

Katedra Botaniki, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa; *marzena_sujkowska@sggw.pl

Badano akumulację tlenu azotu (NO) w korzeniach zmykoryzowanych (AM) *Medicago truncatula* poddanych toksycznemu działaniu glinu (Al) lub cynku (Zn). Siedmiodniowe siewki inokulowano *Glomus intraradices*, a następnie ośmioletniowe rośliny poddano działaniu 50 μ M AlCl₃ lub 1000 μ M ZnSO₄ przez 2 godziny. Korzenie traktowano specyficznym barwnikiem do lokalizacji tlenu azotu, DAF – 2DA, a następnie krojono na kriomikrotomie (CUT American Optical) na 40 μ m grubości skrawki i obserwowano w mikroskopie konfokalnym (Leica TCS SP5).

Tlenek azotu jest ważną cząsteczką sygnałową, uczestniczącą w procesach rozwojowych, jak i w odpowiedzi na stresy abiotyczne i biotyczne. Rola NO w tolerancji roślin na toksyczne działanie Zn lub Al pozostaje niewyjaśniona. Mimo istnienia dowodów na akumulację NO w brodawkach roślin motylkowatych, prawie nic nie wiadomo na temat lokalizacji NO w korzeniach zmykoryzowanych. Symbioza *Rhizobium* i AM wykazują wspólne cechy w ich szlakach sygnalizacyjnych. Celem niniejszej pracy było określenie udziału NO w reakcji roślin na toksyczne działanie Al lub Zn podczas symbiozy z grzybami arbuskularnymi.

Histolokalizacja NO w korzeniach zmykoryzowanych wykazała, że stres Al i Zn zwiększają akumulację NO. Korzenie traktowane Al lub Zn wykazywały silniejszą fluorescencję w arbuskulach oraz ścianach pęcherzyków i grzybni wewnątrzkorzeniowej w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Szczególnie silną fluorescencję wykazywały zbite arbuskule, które często występowały w traktowanych korzeniach. Te cechy akumulacji NO w strukturach grzybów wykazują podobieństwo do akumulacji tlenu podczas przedwczesnego starzenia się brodawek korzeniowych roślin motylkowatych rosnących w warunkach toksycznego działania Al lub Zn.

Localization of nitric oxide in arbuscular mycorrhizal roots exposed to Al or Zn stress

Marzena Sujkowska-Rybikowska*, Wojciech Borucki

Warsaw University of Life Sciences, Department of Botany
166 Nowoursynowska St., PL-02-787 Warszawa;

*marzena_sujkowska@sggw.pl

We investigated the localization of nitric oxide (NO) in arbuscular mycorrhizal (AM) roots of *Medicago truncatula* grown under aluminum (Al) or zinc (Zn) stress. 7-day-old seedlings were inoculated with *Glomus intraradices* and after 8-weeks plants were exposed to 50 μ M AlCl₃ or 1000 μ M ZnSO₄ for 2h. Afterwards the roots were treated with NO-specific probe 4,5-diaminofluorescein diacetate (DAF-2DA) and were cryosectioned on 40-

µm-thick sections that were examined in confocal laser microscope (Leica TCS SP5).

NO is an important signalling molecule in plant systems being involved in developmental processes and in response to abiotic and biotic stresses. The role of NO in Zn and Al tolerance in plants remains unclear. While there are evidences for NO accumulation during legume nodulation, almost no information exists for arbuscular mycorrhizas (AM). Since rhizobial symbioses and AM, share common features in their signaling pathways the aim of this work was to verify the possible involvement of NO in plant responses to Al or Zn stresses during symbiosis with AM fungi.

The histolocalization of NO in mycorrhizal roots revealed that Al or Zn induced significant NO accumulation. Al- or Zn- treated mycorrhizal roots displayed stronger fluorescence in arbuscules, walls of vesicles and fungal intraradical hyphae compared with control ones. A particularly strong staining of arbuscules correlated with arbuscular clumping, which were often observed in the treated roots. These characteristics of NO accumulation in fungal structures suggest similarities to NO accumulation during the premature senescence of legume root nodules under Al or Zn stress conditions.

Biologicznie aktywne związki w kulturach mycelialnych wybranych gatunków grzybów aphyloforoidalnych

Katarzyna Sulkowska-Ziaja*, Bożena Muszyńska

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej

Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński

ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków; *katarzyna.sulkowska-ziaja@uj.edu.pl

Grzyby z typu *Basidiomycota* od dawna budzą zainteresowanie ze względu na występowanie w ich owocnikach szeregu związków o uznanych właściwościach leczniczych. Obiektem przeprowadzonych badań były kultury mycelialne dwóch gatunków grzybów aphyloforoidalnych występujących na terenie Polski *Hydnum repandum* L.: Fr., oraz *Sparassis crispa* (Wulf.) Fr. Celem podjętych badań była jakościowa i ilościowa analiza ekstraktów otrzymanych z kultur *in vitro* pod kątem występowania związków o udokumentowanej aktywności biologicznej: kwasów fenolowych, niehalucynogennych związków indolowych oraz steroli.

Do oznaczeń wykorzystano wysokosprawną chromatografię ciekłą faz odwróconych (RP-HPLC). Na podstawie analizy stwierdzono w ekstraktach z otrzymanej biomasy obecność ośmiu kwasów fenolowych: galusowego, gentyzynowego, *p*-hydroksybenzoesowego, kawowego, kumarowego, protokatechowego, syringowego, wanilinowego oraz kwasu cynamonowego. Całkowita zawartość kwasów fenolowych w badanych ekstraktach wynosiła od 1,56 mg/100g s. m. do 5,96 mg/100g s. m.

Spośród związków pochodnych indolu ilościowo oznaczono: indol, melatoninę, serotoninę, tryptaminę i tryptofan. Całkowita ich zawartość

wynosiła od 1,28 mg/100g s. m. (ekstrakty z *H. repandum*) do 3,07 mg/100g s. m. (ekstrakty z *S. crispa*). Ilościowo dominującym metabolitem była tryptamina: 2,69 mg/100 g s. m. w ekstraktach z *S. crispa*. Spośród steroli oznaczono ergosterol w biomacie z kultur *in vitro* *S. crispa* (150,37 mg/100 g s. m.).

Uzyskane wyniki wskazują, że przebadane kultury mycelialne krajowych gatunków grzybów afyloforoidalnych są zdolne do akumulacji metabolitów aktywnych biologicznie.

Biologically active compounds present in the mycelial cultures of selected species of aphyllophorales

Katarzyna Sułkowska-Ziaja*, Bożena Muszyńska

Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy

Jagiellonian University Medical College

9 Medyczna St., PL-30-688 Kraków; *katarzyna.sulkowska-ziaja@uj.edu.pl

For a long time, fungi belonging to *Basidiomycota* phylum have been in the center of attention because of the presence of compounds with known therapeutic activity in their fruiting bodies. Mycelial cultures of two aphyllophorales species occurring in Poland, *Hydnum repandum* L.: Fr., and *Sparassis crispa* (Wulf.) Fr., were analyzed in our studies. The main aim of the study was qualitative and quantitative analysis of extracts obtained from the mycelial culture for the presence of known biologically active compounds including phenolic acids, non-hallucinogenic indolic compounds and sterols.

We used for the purpose of analysis a reversed-phase chromatography (RP-HPLC) method. Presence of eight phenolic acids including gallic acid, gentisic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, protocatechuic acid, syringic acid, vanillic acid and cinnamic acid was confirmed in the extracts obtained from the biomass. Total phenolic acids content was found in the range 1.56 mg/100g DM to 5.96 mg/100g DM in the analyzed extracts.

Derivatives of indole such as indole, melatonin, serotonin, tryptamine and tryptophan were measured quantitatively. Their total content was found from 1.28 mg/100g DM to 3.07 mg/100g DM in *H. repandum* and *S. crispa* extracts, respectively. In *S. crispa* extracts, the major metabolite found was tryptamine (2.69 mg/100 g DM). In addition, ergosterol, one of sterols present in the biomass of *in vitro* cultures of *S. crispa* was also analyzed (150.37 mg/100 g DM.).

Obtained results confirm that mycelial culture of domestic species of aphyllophorales are able to accumulate biologically active metabolites.

Analiza aktywnych biologicznie metabolitów wtórnych w ekstraktach z owocników krajowych gatunków grzybów poliporoidalnych

Katarzyna Sułkowska-Ziaja*, Bożena Muszyńska

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej

Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński

ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, *katarzyna.sulkowska-ziaja@uj.edu.pl

Grzyby poliporoidalne stanowią zróżnicowaną pod względem taksonomicznym grupę grzybów wielkoowocnikowych. Charakterystycznymi cechami większości z nich są stosunkowo twarde owocniki o rurkowatym hymenoforze oraz zdolność do rozkładu drewna.

Prowadzone w ostatnich dekadach w różnych krajach badania składu chemicznego gatunków nadrewnowych wykazały, że są one bogatym źródłem związków biologicznie aktywnych. Zidentyfikowane substancje należą do związków o bardzo złożonym charakterze chemicznym. Należą do nich m.in. polisacharydy, związki terpenowe (reprezentowane przez mono-, seskwi-, di-, tri- i tetraterpeny), sterole, karotenoidy, związki fenolowe.

Liczne prace badawcze przeprowadzone głównie w Japonii, Chinach i USA wskazują na wysoką aktywność terapeutyczną ekstraktów i związków otrzymywanych z grzybów poliporoidalnych. Posiadają one potwierdzoną w badaniach eksperymentalnych aktywność przeciwnowotworową, przeciwbakteryjną, przeciwgrzybiczą, przeciwwirusową, przeciwzapalną i immunomodulującą. Ponadto wykazują działanie antycholinergiczne i hipotensyjne. Ich skuteczność terapeutyczną potwierdzono także w leczeniu cukrzycy i miażdżycy. Grzyby poliporoidalne stanowią również cenne źródło struktur wiodących dla leków przeciwzapalnych, przeciwbakteryjnych czy przeciwnowotworowych.

W Polsce stwierdzono występowanie kilkudziesięciu gatunków grzybów poliporoidalnych, jednak tylko nieliczne z nich analizowane były pod kątem ich składu chemicznego i właściwości biologicznych. Obiecujące wyniki badań grzybów z tej grupy pochodzących z innych kontynentów, skłoniły nas do podjęcia analiz składu chemicznego ekstraktów z owocników powszechnie występujących na terenie naszego kraju.

W ramach podjętych badań przeprowadzono analizę jakościową i ilościową związków o uznanej aktywności biologicznej: kwasów fenolowych, niehalucynogennych związków indolowych, steroli i karotenoidów. Badaniami objęto ekstrakty otrzymane z owocników 19 krajowych gatunków (np. *Bjerkandera adusta*, *Inonotus cuticularis*, *Piptoporus betulinus*, *Trametes hirsuta*) z wykorzystaniem metod chromatograficznych (TLC, PTLC, RP-HPLC) oraz spektralnych. W owocnikach stwierdzono obecność m.in. L-tryptofanu, hydroksytryptofanu, melatoniny, kwasów fenolowych (np. galusowego, gentyzynowego, protokatechowego i syryngowego), ergosterolu, tokoferolu oraz karotenu i likopenu. Większość badanych gatunków może stanowić cenne źródło związków o działaniu leczniczym (m.in. przeciwutleniającym).

Analysis of biologically active secondary metabolites in extracts of fruiting bodyderived from domestic species of the polyporoid fungi

Katarzyna Sułkowska-Ziaja*, Bożena Muszyńska

Department of Pharmaceutical Botany

Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University Medical College

9 Medyczna St., PL-30-688 Kraków; *katarzyna.sulkowska-ziaja@uj.edu.pl

Polyporoid fungi are taxonomically diversified group of macrofungi. They are characterized by relatively hard fruiting body with tubular hymenophore and ability to digest wood. In recent decades, analyses of chemical composition of arboreal species have been done in many countries and it has been confirmed that these species are rich source of biologically active compounds. Identified substances represents polysaccharides, terpenes (mono, sesqui-, di-, tri- and tetra terpenes), sterols, carotenoids and phenolic compounds. High therapeutic activity of extracts and compounds isolated from polyporoid fungi has been established via many studies performed mainly in Japan, China and US. The polyporoid fungi possess experimentally proven anticancer, antibacterial, antifungal, antiviral, anti-inflammatory and immunomodulatory activity. Moreover, they have *anticholinergic* and antihypertensive properties. Their therapeutic effectiveness has also been confirmed for diabetes and atherosclerosis. Polyporoid fungi are also valuable source of lead compounds/ target molecules for anti-inflammatory, antibacterial and anticancer drugs. There are several dozen species of polyporoid fungi present in Poland, however only few of them were evaluated to assess their chemical composition and biological properties. Promising results of studies on fungi from different continents belonging to this group inspired us to analyse chemical composition of extracts isolated from fruiting bodies common in Poland.

Qualitative and quantitative analysis of compounds with known biological activity such as phenolic acids, non-hallucinogenic indolic compounds, sterols and carotenoids have been done. Chromatography methods (TLC, PTLC, RP-HPLC) and spectral methods were utilized in order to analyse extracts isolated from 19 domestic species (such as *Bjerkandera adusta*, *Inonotus cuticularis*, *Piptoporus betulinus*, *Trametes hirsuta*). Presence of L-tryptophan, hydroxytryptophan, melatonin and phenolic acids (gallic acid, gentisic acid, protocatechuic acid and syringic acid), ergosterol, tocopherol, carotene and lycopene has been confirmed in the fruiting bodies. The majority of analysed species may comprise rich source of compounds with therapeutic effect (i.e. Antioxidants).

Synergizm znanych i potencjalnie nowych leków w zwalczaniu wielolekowej oporności u *Candida albicans*

Joanna Szczepaniak, Anna Krasowska*

Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski

ul. Joilot-Curie 14a, 50-383 Wrocław; *anna.krasowska@uni.wroc.pl

Candida albicans jest to grzyb oportunistyczny, wywołujący grzybicę u osób osłabionych, na przykład po przeszczepach lub długotrwale chorujących (Pfaller, Diekema 2007). Powszechnie stosowane w leczeniu grzybic azole, takie jak flukonazol (FLU) czy worykonazol (VRC), zaburzają syntezę ergosterolu w błonie komórkowej. Amfoterycyna B (AMB), polienowy antybiotyk, wiąże się z ergosterolem, zakłócając funkcjonowanie błon komórkowych, a kaspofungina (CAS) to lipopeptyd hamujący syntezę β -(1,3)-D-glukanu w ścianie komórkowej (Martin, Parras, Lozano 1992). Główną przyczyną oporności *C. albicans* na stosowane leki jest aktywność transporterów błonowych z rodzin ABC (pompy Cdr1 i Cdr2) i MFS (pompa Mdr1), które wyrzucają ksenobiotyki z komórki (Cannon et al. 2009). Jednym ze sposobów rozwiązania tego problemu może być użycie inhibitorów pomp wyrzutu leków, a innym – wzmocnienie działania antybiotyków poprzez zastosowanie ich synergistycznego działania.

W przedstawianej pracy, autorzy sprawdzili aktywność przeciwrzybiczną FLU, VRC, AMB oraz CAS na szczepach *C. albicans* pozbawionych poszczególnych pomp wyrzutu leków. Antybiotyki stosowano pojedynczo, jak i połączone w pary z flukonazolem. Stwierdzono, że zarówno FLU, jak i VRC są wypompowywane przez wszystkie trzy transportery, lecz oporność szczepów na te azole nie zależy jedynie od aktywności pomp. Wrażliwość szczepów na AMB była niższa niż na FLU i nie zależała od aktywności pomp. Zastosowanie inhibitora Cdr1 – enniatyny, powodowało wzrost drażliwości szczepów na azole. Zastosowanie mieszanin FLU-VRC, FLU-AMB oraz FLU-CAS w większości szczepów wykazało wzmocnione, synergistyczne działanie leków. Zaobserwowano, że mutanty pozbawione pompy Cdr1 charakteryzowały się większą opornością na mieszaniny leków.

Synergy of known and potentially new drugs in the inhibition of *Candida albicans* multidrug resistance

Joanna Szczepaniak, Anna Krasowska*

Faculty of Biotechnology, University of Wrocław

14a Joilot-Curie St., PL-50-383 Wrocław; *anna.krasowska@uni.wroc.pl

Candida albicans is an opportunistic fungus causing mycoses especially in immune-compromised patients and people with HIV or diabetes (Pfaller, Diekema 2007). Since a few decades an increase in the resistance of *Candida* to antibiotics and the frequency of candidoses has been observed. The treatment of mycoses is difficult because of the similarity in the cell structure and metabolism between fungi and humans. Commonly used azoles, e.g. fluconazol (FLU) or voriconazol (VRC) disturb the synthesis of ergosterol in

the plasma membrane, polyene antibiotics such as amphotericin B (AMB) bind to ergosterol and disturb plasma membrane functions. Another antibiotic, caspofungin (CAS) is a lipopeptide which inhibits β -(1,3)-D-glucan synthesis in the cell wall (Martin, Parras, Lozano 1992). The main reason of *C. albicans* drug resistance is the presence of ABC and MSF transporters in the plasma membrane. Cdr1, Cdr2 and Mdr1 proteins pump xenobiotics from the cell (Cannon et al. 2009). A solutions of the problem of *Candida* drug resistance could be the use of inhibitors of efflux pumps or treatment of candidoses by synergistic action of antibiotics.

We tested the antifungal activity of FLU, VRC, AMB and CAS on mutants of *C. albicans* with deletions in genes encoding efflux pumps. Antibiotics were used alone as well as in synergy with fluconazole. Enniatin, the inhibitor of the main Cdr1 pump - was used in order to verify whether tested antibiotics are exported by this pump. We found that FLU and VRC are pumped out of the cells by all three transporters but most actively by Cdr1. The resistance of the strains to these azoles does not depend only on the activity of the pumps. The sensitivity of the strains to AMB was lower than to FLU and it seems no depend on the pump action. The use of enniatin resulted in an increase in susceptibility of *C. albicans* to azoles. The use of mixtures of FLU-VRC, FLU-AMB and FLU-CAS in most strains resulted in increased sensitivity and confirmed the synergistic effect of the drugs. It has been observed that the mutants devoid of CDR1 pumps show a greater resistance to a mixture of drugs so we can hypothesize that in this situation there is increased expression of genes encoding other pumps that eject the drugs out of the cells.

Pfaller MA., Diekema DJ. 2007 Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev 20, 133-163.

Martin E., Parras P., Lozano M.C. 1992. *In vitro* susceptibility of 245 yeast isolates to amphotericin B, 5-fluorocytosine, ketoconazole, fluconazole and itraconazole. Chemotherapy, 38, 335-339.

Cannon RD., Lamping E., Holmes AR., Niimi K, PV. Baret, Keniya MV., Tanabe K., Niimi M., Goffeau A., Monk BC. 2009. Efflux-mediated antifungal drug resistance. Clinical Microbiology Reviews, 22, 291-321.

Grzyby entomopatogeniczne jako organizmy przydatne w biokontroli kleszczy

Anna Szczepańska

Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Biologicznych, Instytut Genetyki i
Mikrobiologii, Zakład Ekologii Drobnoustrojów i Ochrony Środowiska
anna.szczepanska@microb.uni.wroc.pl

Kleszcze pospolite *Ixodes ricinus* to hematofagiczne pasożyty będące wektorami wielu chorób m.in. boreliozy, kleszczowego zapalenia mózgu, czy babeszjozy. Większość chorób odkleszczowych (TBD) jest trudna w rozpoznaniu i leczeniu. W związku z tym ważne jest zapobieganie TBD, a obecnie najskuteczniejszą formą jest ochrona osobista. Niestety świadomość ludzi na temat niebezpieczeństwa, jakie wiąże się z kleszczami jest niska. Stąd

potrzeba wdrożenia nowych, skutecznych metod biokontroli populacji kleszczy. Jednymi z najbardziej obiecujących organizmów, jakie mogą być wykorzystane w tym celu są grzyby entomopatogeniczne, spośród których *Beauveria bassiana* odniosła do tej pory najlepsze rezultaty.

Do badań wykorzystano dwa szczepy grzybów *Beauveria bassiana*, hodowanych na podłożu ziemniaczanym.. Z trzy tygodniowej hodowli wykonano roztwór konidialny, którym zakażano okazy kleszczy pospolitych, *Ixodes ricinus*. Kleszcze zebrano standardową metodą flagowania w maju 2014 roku. W badaniach wykorzystano po 10 sztuk obu płci (łącznie 90 osobników). Okazy odkażano powierzchniowo, płukano w jałowym płynie fizjologicznym a następnie zanurzano w przygotowanym roztworze konidialnym na 3 min. Kleszcze umieszczono na szalkach Petriego w temp. pokojowej i utrzymywano wilgotność względną na poziomie 80%.

Pierwszy ze szczepów wykazał się małą skutecznością – 10% zarówno w przypadku samic, jak i samców. Z kolei drugi ze szczepów w przypadku samców okazał się bardziej skuteczny. Śmiertelność samców po 8 dniach od zarażenia wynosiła 50%. Rezultat w przypadku samic to jedynie 20%. Samce okazały się być w tym przypadku znacznie mniej odporne na działanie grzybów. Martwe okazy *I. ricinus* zebrano i potwierdzono obecność *Bauvria bassiana* w ich wnętrzu poprzez posiew wyizolowanego z kleszczy materiału na płytki z podłożem ziemniaczanym.

Takie rezultaty wskazują na konieczność wykonania kolejnych badań, w celu odnalezienia najbardziej efektywnych szczepów, pozwalających na prowadzenie w przyszłości przyjaznej środowisku kontroli populacji kleszczy.

Entomopathogenic fungi as organisms helpful in tick population biocontrolling

Anna Szczepańska

Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Biologicznych, Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Zakład Ekologii Drobnoustrojów i Ochrony Środowiska
anna.szczepanska@microb.uni.wroc.pl

Ixodes ricinus, the common ticks are blood-feed parasites and vectors of many diseases: Lyme disease, tick-borne encephalitis, babesiosis and many others. Tick-borne diseases (TBD) are difficult in diagnosis and treatment. Therefore, it is important to prevent the TBD. Currently the most effective form of prevention is personal protection. Unfortunately, people awareness about the dangers posed by ticks is low. Thus, there is a need to implement new, effective methods of tick populations controlling. One of the most promising organisms that may be used for this purpose are entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* so far resulted the most effective one.

The study used two strains of *Beauveria bassiana*, grown on potato medium. With a three-week breeding colony, we made a conidial solution to infect *Ixodes ricinus*. Ticks were collected by flagging method in May 2014. The study used 20 ticks of both sexes (total of 90 individuals). Tick surface was disinfected, washed in sterile physiological saline and then immersed in the prepared conidial solution for 3 min. Then put on a Petri dish at room temperature and relative humidity - 80%. The first of the strains showed a low

efficiency - 10% for both, females and males. In turn the other strains in the case of males was more effective. Male mortality, 8 days after infection was about 50%. The result in the case of females is only 20%. Males were found to be in this case less resistant to fungi. Dead specimens of *I. ricinus* were collected and confirmed with the presence of *Beauveria bassiana* inside them by plating isolated material on the potato medium.

These results demonstrate that it is necessary to make next tests to find the most effective strains, allowing in the future, to find environmentally friendly organisms to control tick populations.

Rtęć w maślaku zwyczajnym i jego podłożu glebowym

Natalia Szyłke¹, Innocent. C. Nnorom², Jerzy Falandysz¹

¹Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

²Abia State University, Uturu, Abia State, Nigeria

W ramach projektu badań nad składem mineralnym, bionagromadzeniem i wartością odżywczą grzybów rosnących dziko przedstawiono wyniki na temat rtęci i maślaka zwyczajnego *Suillus luteus* (L.) S.F. Gray. Materiał do badań – grzyby i wierzchnią warstwę (0-10 cm) gleby, pozyskano z przestrzennie oddalonych od siebie miejsc na terenie kraju. Do badań selekcionowano owocniki niezarobaczone. Powierzchnię owocników oczyszczano od ewentualnych ciał obcych (liście, bezkręgowce, gleba), suszono i ucierano na proszek w moździerzu porcelanowym. Zawartość rtęci oznaczono osobno w sproszkowanych kapeluszach i trzonach owocników wysuszonych do stałej masy w temperaturze 65°C. Glebę, po usunięciu widocznych kamyków, patyków i bezkręgowców suszono na powietrzu przez kilkanaście tygodni w czystym i suchym pomieszczeniu. Wysuszoną glebę przesiewano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Oznaczenia rtęci wykonano stosując sprawdzoną metodykę techniką zimnych par bezpłomieniowej spektroskopii absorpcyjnej (CV-AAS) – po spopieleniu materiału w piecu ceramicznym analizatora rtęci typ MA-2. Analizę każdej partii materiału wykonywano w dwóch powtórzeniach. W celu zapewnienia wysokiej jakości analitycznej równolegle z badanym materiałem analizowano próbki grzybowego materiału odniesienia o nazwie CS-M-1 (owocniki grzyba *Suillus bovinus*) o znanej zawartości rtęci oraz wykonywano ślepe próby.

Maślak zwyczajny z terenów leśnych niezanieczyszczonych rtęcią (zawartość w podłożu glebowym poniżej 0,05 mg Hg/kg masy suchej) lub innymi metalami ciężkimi wydajnie gromadzi ten metal w owocnikach [wartość współczynnika bionagromadzenia (BCF) znacznie przekraczała 1]. Niemniej mimo możliwości nagromadzenia rtęci zawartość tego metalu w kapeluszach owocników tego grzyba nie przekraczała 0,50 mg/kg masy suchej, a w trzonach było znacznie mniej rtęci. Badania wykazały, że kapelusze owocników maślaka zwyczajnego cechuje umiarkowanie małe zanieczyszczenie rtęcią. W świetle ustalonych przez odpowiedzialne gremia wartości tolerowanych dawek codziennego i tygodniowego narażenia na rtęć pobieraną drogą pokarmową – takich jak dawka referencyjna (RfD) czy dawka tymczasowo dopuszczalnego tygodniowego pobrania (PTWI) – owocniki

maślaka zwyczajnego pochodzące ze zbadanych terenów leśnych w kraju pod względem zawartości rtęci są bezpieczne dla zdrowia i nadają się do spożycia.

Mercury in Slippery Jack and soil substratum beneath the fruit bodies

Natalia Szyłke¹, Innocent. C. Nnorom², Jerzy Falandysz¹

¹Faculty of Chemistry, University of Gdańsk

63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

²Abia State University, Uturu, Abia State, Nigeria

This study is a part of a comprehensive survey to investigate the mineral constituents in mushrooms (*Macromycetes*) and aims to provide data on baseline concentrations and potential to bioconcentration of mercury (Hg) in fruit bodies by Slippery Jack *Suillus luteus* (L.) collected across of Poland. Mushrooms and the soil substratum (layer 0-10 cm) beneath them were collected from several dozens of spatially and distantly distributed sites in forested and unpolluted regions of the country in order to assess intake and possible risk as well as to monitor further changes in pollution.

Only fruit bodies that are in good shape (not infected by insects and not too old) were collected and used in this study. Fruit bodies were cleaned-up from adhered plant materials and soil substrate debris and the lower part of the stipes were cut-off using a plastic knife. The Hg contents were determined after direct sample matrix pyrolysis and further collection of free mercury vapor by a mercury collection agent in the form of gold amalgam and detection of released atomic mercury using cold atomic absorption method (CV-AAS) at a wavelength of 253.7 nm (Mercury analyzer type MA-2000 Nippon Instruments Corporation, Takatsuki, Japan). Analyses were subjected to analytical control and quality assurance (AC/QA) checks as described in detail in an earlier publication (Jarzyńska and Falandysz 2011).

The Slippery Jack, just like many other species of the forest and pasture/lawns mushrooms, when developing in soil substratum uncontaminated with heavy metals (background Hg level in soils in Poland is assessed as below 0.005 mg/kg dry matter) is a species that efficiently bioconcentrated this toxic element in fruit bodies [a value of bioconcentration factor (BCF) exceeded 1]. Regardless of the good potential of this mushroom to bioconcentration of mercury from soil substratum, the amount of mercury sequestered in caps of fruit bodies in this study did not exceeded 0.50 mg/kg dry matter and much less in the stalks.

Results from this study showed that caps of Slippery Jack from the background forested areas in Poland are moderately contaminated with mercury. In the light of the allowable doses of mercury intake by man such as the reference dose (RfD) and the provisionally allowable weekly intake (PTWI), the fruit bodies of Slippery Jack collected in regions of the country uncontaminated with mercury or surveyed in this study are safe from the hygienic point of view and hence allowable for consumption.

Jarzyńska G., Falandysz J. 2011. The determination of mercury in mushrooms by CV-AAS and ICP-AES techniques. *Journal of Environmental Science and Health, A*, 46: 569-573.

Radionuklidy (^{137}Cs , ^{40}K , ^{236}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb) w borowiku szlachetnym

Anna Śliwińska¹, Martyna Saba², Grażyna Krasieńska²,

Tamara Zalewska¹, Jerzy Falandysz²

¹Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej, Oddział Morski w Gdyni

ul. Waszyngtona 42, 81-342 Gdynia

²Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

Celem badań było poznać i ocenić zawartość $^{134/137}\text{Cs}$, ^{40}K , ^{226}Ra , ^{214}Bi i ^{214}Pb w owocnikach borowika szlachetnego oraz korespondujących próbkach gleby (warstwa 0-10 cm) pochodzących z różnych ekosystemów leśnych na terenie kraju i zebranych w różnym czasie (1995-2012) po katastrofie nuklearnej w Czarnobylu.

Badano próbki zbiorcze osobno kapeluszy i trzonów, a sporadycznie całych owocników. Próbkę zbiorczą tworzyło zazwyczaj kilkanaście owocników z określonego miejsca. Owocniki grzybów suszono i ucierano na proszek. Aktywność promieniotwórczą nuklidów oznaczono metodą spektrometrii gamma z zastosowaniem detektora półprzewodnikowego HPGe o wydajności 18% i zdolności rozdzielczej 1,9 keV przy energii 1332 keV wraz z analizatorem. Analizę widm rejestrowanych w 8000 kanałów prowadzono z zastosowaniem oprogramowania Genie – 2000. Wszystkie aktywności przeliczono na datę pozyskania materiału grzybowego i uwzględniając rozpad promieniotwórczy. Otrzymane wyniki przedstawiono w Bq w przeliczeniu na kg masy bezwzględnie suchych owocników i podłoża glebowego (105°C).

W chwili analiz (rok 2013) nuklidu ^{134}Cs nie wykrywano w materiale z lat 90. (nuklid w trakcie wieloletniego przechowywania grzybów uległ już rozpadowi promieniotwórczemu) jak i w materiale z 2012 roku – grzyby i gleba były już wolne od tego nuklidu. Borowiki w zależności od miejsca pochodzenia zawierały zróżnicowaną ilość ^{137}Cs . Na przykład w kapeluszach borowików z Puszczy Białowieskiej z 1998 roku aktywność ^{137}Cs wynosiła 10161 ± 83 Bq/kg masy suchej, dla okazów z rejonu Kotliny Kłodzkiej z 2000 roku 5722 ± 83 Bq/kg, a dla okazów zebranych w Borach Tucholskich w 2010 roku mniej, bo 497 ± 9 Bq/kg. Wartości aktywności ^{40}K w borowikach z różnych miejsc nie były aż tak zróżnicowane jak w przypadku ^{137}Cs , a dla większości miejsc była ona zbliżona do lub mniejsza niż dla ^{137}Cs . Aktywności dla ^{226}Ra były o około połowę mniejsze niż dla ^{40}K a w przypadku ^{214}Bi i ^{214}Pb poza dwoma przypadkami nie przekraczały 100 Bq/kg ms.

Radionuclides (^{137}Cs , ^{40}K , ^{236}Ra , ^{210}Bi and ^{214}Pb) in King Bolete

Anna Śliwińska¹, Martyna Saba², Grażyna Krasińska²,

Tamara Zalewska¹, Jerzy Falandysz²

¹Institute of Meteorology and Water Management – Marine Division in
Gdynia

42 Waszyngtona St., PL-81-342 Gdynia

²Faculty of Chemistry, University of Gdańsk

63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

Radiocesium (^{137}Cs) is the radionuclide on which public interest is mainly focused and it is widely studied and has been found in wild-grown mushrooms (Falandysz and Borovička 2013). This nuclide decays to meta-stable isotope $^{137\text{m}}\text{Ba}$ ($t_{1/2}$ of 153 seconds; γ) that is responsible for all of the gamma rays emitted. Mushrooms can capture radiocesium from the surface of soils and decaying litter and from deeper soil layers and this is related to fungal biology and placement of mycelium and depth and structure of soil layers. Fungi certainly are involved in biogeocycling of radiocesium and by decaying fruit-bodies – like in the case of other mineral elements, fungus can recycle radiocesium from deeper soil layers back to the surface of the forest floor. This aim of this study was to examine radiocesium contamination of fruit bodies of popular and valued mushroom, King Bolete or Porcine (*Boletus edulis*) collected from various places in Poland in 1995-2012.

Mushrooms, after clean-up from any visible plant vegetation and soil debris, were air-dried for several days. Further, each specimen was separated into two parts – the cap and stipe – and dried at 65 °C to constant weight. Dried mushrooms were pulverized in an agate mortar and kept in brand new sealed polyethylene bags under dry conditions. Data reported in Table 1 are for the specimens that were dried at 105 °C. Radioactivity from ^{137}Cs and other nuclides were determined using gamma spectrometer with coaxial HPGe detector with a relative efficiency of 18% and a resolution of 1.9 keV at 1.332 MeV (with associated electronics).

Fruit bodies of *B. edulis* from Poland in 1998-2010 showed the ranges of ^{137}Cs contents but usually safe or tolerable content of this nuclide. For example, the composite samples of specimens (caps) of King Bolete from the Białowieża site in Puszcza Białowieska collected in 1998 contained ^{137}Cs at 10200 Bq/kg dry matter (dm). The composite samples of specimens (caps) from other places examined and depending on the year of collection showed activity at 2000 Bq/kg dm (Sobieszewo Island, Gdańsk) in 1999; 5700 Bq/kg dm (Kłodzka Hallow, Sudety mountains) in 2000; 1000 Bq/kg dm (Mazowsze land – commune Olszewo/Borki) in 2007; 190 Bq/kg dm (Porażyn) in 2008 and 500 Bq/dm (Pomerania) in 2010.

The tolerance limit for ^{137}Cs in fresh foods is 600 Bq/kg – i.e. 6000 Bq/kg when related to dehydrated (dried) mushrooms (assuming 90 % contents of moisture in mature fruiting bodies of fungi, on the average, which is consensus

value). Apart from the King Boletes in regions such as Puszcza Białowieska and Kotlina Kłodzka in this study (no material was available from the region of Opole, which is one of the “hot spots” that are highly contaminated with ^{137}Cs from Chernobyl accident; Mietelski et al. 2010), the specimens from other places showed ^{137}Cs at levels safe for human consumption (far below 6000 Bq/kg dm).

Activity from ^{40}K (natural nuclide) for many consignments of King Bolete in this study were equal or higher when compared to the activity from ^{137}Cs (artificial nuclide) and activity from ^{226}Ra were around half lower compared to the doses received from ^{40}K while activities from ^{214}Bi and ^{214}Pb were usually less than 100 Bq/kg dm. In conclusion, the activity from some natural radionuclides contained in fruit bodies of King Bolete gathered in Poland was altogether greater when compared to ^{137}Cs . More data is needed on the content of others radionuclides, especially the long-lived radionuclides, which could be accumulated by some species or even become highly hazardous if bio-included into the fruit bodies by mushrooms.

Falandysz J., Borovička J. 2013. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms – health benefits and risks. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97: 477-501.

Mietelski JW., Dubchak S., Błażej S., Anielska T., Turnau K. 2010. ^{137}Cs and ^{40}K in fruiting bodies of different fungal species collected in a single forest in southern Poland. *Journal of Environmental Radioactivity*, 101: 706-711.

Mikroskopijne grzyby podstawkowe (Basidiomycota) na roślinach naczyniowych w Tatrach

Urszula Świdarska-Burek¹, Monika Kozłowska¹, Agata Wołczańska¹, Kamila Bacigálova², Wiesław Mułenko¹

¹Zakład Botaniki i Mykologii, Instytut Biologii i Biochemii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

²Botanický ústav, Slovenská akadémia vied
Dúbravská cesta 9, 845 23 Bratislava, Slovakia

W pracy zestawiono informacje o występowaniu w Tatrach mikroskopijnych grzybów pasożytniczych z gromady Basidiomycota. Podsumowano dotychczasowe dane pochodzące z literatury oraz ze zbiorów zielnikowych. Wzięto pod uwagę grzyby odnotowane na obszarze Tatrzańskiego Parku Narodowego oraz na terenach sąsiadujących.

Dotychczas stwierdzono występowanie 282 gatunków grzybów na 472 gatunkach roślin żywicielskich. Należą one do 3 podgromad, 9 rzędów i 39 rodzajów. Zdecydowanie najwięcej gatunków (215) należy do rzędu Pucciniales. Pozostałe rzędy reprezentowane są mniej licznie: Ustilaginales – 21 gatunków, Microbotryales – 13, Entylomatales – 12, Urocystidales – 8,

Exobasidiales – 6, Tilletiales – 4, Geofischeriales – 2, Hymenochaetales – 1. Podobnie zróżnicowane są liczby gatunków w obrębie rodzajów – najczęściej należy do *Puccinia* (114) i *Uromyces* (34). Po kilkanaście gatunków stwierdzono wśród *Melampsora* (13), *Microbotryum* (13), *Entyloma* (12) i *Anthracoidea* (11). Pozostałe 33 rodzaje reprezentowane są przez nieliczne, a nawet pojedyncze gatunki.

Zróżnicowane jest także występowanie grzybów w poszczególnych regionach. Z polskiej części Tatr wykazano 181 gatunków, nieco więcej (208 gatunków) po stronie słowackiej, przy czym 136 to gatunki wspólne dla obu krajów. Najwięcej grzybów stwierdzono w Tatrach Wysokich (161), z czego aż 159 gatunków po stronie słowackiej, zaś po polskiej tylko 51. W Tatrach Zachodnich zebrano 154 gatunki pasożytów, przy czym 133 w Polsce, natomiast 65 na Słowacji. W Tatrach Bielskich liczba gatunków wynosi 125.

Z analizy preferencji siedliskowych oraz rozmieszczenia przestrzennego wynika, że niektóre taksony występują w obrębie wszystkich pięter roślinnych (np. *Coleosporium tussilaginis*, *Melampsora epitea*). Należą one głównie do gatunków wielożywicielowych. Większość jednak notowana jest w obrębie całego zasięgu występowania roślin (np. *Uromyces apiosporus*, *Puccinia asarina*, *Melampsoridium hiratsukanum*). Natomiast nieliczne gatunki, mimo obecności żywiciela, notowane są tylko w wąskim przedziale wysokości. Wśród nich dominują gatunki wysokogórskie: *Puccinia leveillei* i *Nyssopsora echinata* (od 1500 do 1900 m n.p.m.).

Microscopic basidiomycete parasites of vascular plants in the Tatra Mountains

Urszula Świdarska-Burek¹, Monika Kozłowska¹, Agata Wołczańska¹, Kamila Bacigálova², Wiesław Mułenko¹

¹Department of Botany and Mycology, Institute of Biology and Biotechnology
Maria Curie-Skłodowska University, 19 Akademicka St., PL-20-033 Lublin

²Botanický ústav, Slovenská akadémia vied,
Dúbravská cesta 9, 845 23 Bratislava, Slovakia

Information about the distribution of parasiting fungi of Basidiomycota phylum in the Tatra Mountains is presented in the paper. The data from the literature and herbarium collections provided so far are summarized. The fungi noted from the Tatra National Park and adjacent areas are reported.

The presence of 282 fungus species on 472 host plants has been recorded until recently. They belong to 3 subphyla, 9 orders, and 39 genera. A vast majority of the species (215) belong to the Pucciniales order. The remaining orders are represented less frequently: Ustilaginales – 21 species, Microbotryales – 13, Entylomatales – 12, Urocystidales – 8, Exobasidiales – 6, Tilletiales – 4, Geofischeriales – 2, Hymenochaetales – 1. Similarly diverse are the numbers of species within the genera – a majority belong to *Puccinia* (114) and *Uromyces* (34). More than a dozen species were noted within *Melampsora* (13), *Microbotryum* (13), *Entyloma* (12), and *Anthracoidea* (11). The other 33

genera are represented by a few or even a single species.

The occurrence of fungi in the individual/separate regions is also diverse. 181 species from the Polish part of the Tatra have been reported, slightly more (208 species) on the Slovak side, with 136 species common to both countries. The highest numbers of fungi were noted in the High Tatra (161), of which 159 species on the Slovak side, and only 51 on the Polish side. In the Western Tatra, 154 species of parasites were collected, with 133 in Poland and 65 in Slovakia. In the Belianske Tatras, the number of species is 125.

The analysis of habitat preferences and spatial distribution revealed that some taxa occur within all altitudinal zonations (e.g. *Coleosporium tussilaginis*, *Melampsora epitea*). They belong mainly to the multi-host species. A majority is listed within the entire occurrence range of plants (e.g. *Uromyces apiosporus*, *Puccinia asarina*, *Melampsoridium hiratsukanum*). In turn, despite the presence of the host, a few species are listed only in a narrow altitude range. High-mountain species dominate among them: *Puccinia leveillei* and *Nyssopsora echinata* (from 1500 to 1900 m a.s.l.).

Występowanie grzybów entomopatogenicznych w glebach agrocenoz i środowisk seminaturalnych

Cezary Tkaczuk

Zakład Ochrony Roślin, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w
Siedlcach, ul. Konarskiego 2, 08-110 Siedlce; tkaczuk@uph.edu.pl

Celem przeprowadzonych badań była ocena występowania grzybów entomopatogenicznych w glebach z różnych środowisk w krajobrazie rolniczym, głównie agrocenoz (pola uprawne, użytki zielone), środowisk seminaturalnych oraz siedlisk leśnych. W badanych glebach za pomocą metody owadów pułapkowych oraz podłoży selektywnych oceniono częstotliwość występowania, potencjał infekcyjny oraz zagęszczenie jednostek tworzących kolonie grzybów entomopatogenicznych. Przebadane materiały pozwoliły na określenie wpływu rodzaju gleby, pory roku, struktury krajobrazu oraz czynników agrotechnicznych (system uprawy roli, nawożenie, stosowanie środków ochrony roślin) na występowanie grzybów entomopatogenicznych.

W glebach z agrocenoz i środowisk seminaturalnych, zlokalizowanych w różnych regionach Polski, stwierdzono występowanie siedmiu gatunków grzybów entomopatogenicznych reprezentujących anamorfy workowców (Hypocreales, Ascomycota). Były to: *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Isaria farinosa*, *I. fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride*, *Lecanicillium lecanii* oraz *Conidiobolus coronatus*, należący do owadomorkowców (Entomophthorales). Biorąc pod uwagę wszystkie pobrane próby glebowe, bez rozróżniania poszczególnych środowisk, stwierdzono w nich wyraźną dominację trzech gatunków grzybów: *B. bassiana*, *M. anisopliae* i *I. fumosorosea*. W zależności od środowiska dominacja grzybów była zróżnicowana. Z gleb pól uprawnych najczęściej izolowany był *M. anisopliae*, następnie *I. fumosorosea* i *B. bassiana*; w glebach łąkowych i pastwiskowych najliczniej wystąpił również *M. anisopliae*, a następnie *B. bassiana* i *I.*

fumosorosea; z prób glebowych pochodzących ze środowisk seminaturalnych związanych z krajobrazem rolniczym, jak zadrzewienia śródpolne, miedze lub ugory – istotnie najczęściej izolowanymi gatunkami grzybów owadobójczych były *I. fumosorosea* i *B. bassiana*. W glebie i ściółce z badanych siedlisk leśnych zdecydowanie dominował *B. bassiana*. Stwierdzono, że potencjał infekcyjny grzybów entomopatogenicznych jest istotnie wyższy w glebach ze środowisk seminaturalnych, takich jak pasy zadrzewień, zadrzewienia śródpolne lub miedze, niż w glebach sąsiadujących z nimi wielkoobszarowymch pól uprawnych. Ponadto siedliska seminaturalne, zwłaszcza zadrzewienia, charakteryzują się znacznie bogatszym składem gatunkowym tych grzybów stanowiąc swoiste refugia dla ich przetrwania. Stosowanie bezorkowego systemu uprawy roli wpływa korzystnie zarówno na skład gatunkowy, zagęszczenie jednostek infekcyjnych jak i na patogeniczność grzybów entomopatogenicznych w glebie. Stwierdzono, że wieloletnie stosowanie obornika wywiera pozytywny wpływ na populację grzybów entomopatogenicznych w glebie. Z kolei stosowanie wysokich dawek nawożenia mineralnego w postaci NPK w dłuższym okresie czasu powoduje spadek zagęszczenia jednostek infekcyjnych grzybów entomopatogenicznych w glebie. Stwierdzono, że wieloletnie stosowanie środków ochrony roślin w sposób istotny obniżało zagęszczenie jednostek CFU grzybów entomopatogenicznych w glebie.

The occurrence of entomopathogenic fungi in soils from agrocoenoses and semi-natural habitats

Cezary Tkaczuk

Department of Plant Protection

Siedlce University of Natural Sciences and Humanities

2 Konarskiego St., PL-08-110 Siedlce; tkaczuk@uph.edu.pl

The purpose of this study was to investigate occurrence of entomopathogenic fungi in the soil from different habitats in agricultural landscape, mainly agrocenoses, semi-natural and forest biotopes. The frequency of occurrence, infective potential and density of infective units of entomopathogenic fungi by means of insect bait method and selective medium was estimated. The influence of kind of soil, season of the year, agricultural landscape structure and different techniques of field-crop production (soil cultivation, fertilization, pesticides use) on the occurrence of entomogenous fungi was determined.

In the soils from agrocenoses and semi-natural habitats in Poland, seven entomogenous fungal species, representing Hypocreales (Ascomycota): *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Isaria farinosa*, *I. fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride*, *Lecanicillium lecanii* and one entomophthoralean fungal species *Conidiobolus coronatus* were found. Generally, three fungi e.g. *B. bassiana*, *M. anisopliae* and *I. fumosorosea*, dominated in Polish soils. The dominance of particular species depended on

habitat. In the soils from arable fields *M. anisopliae* whereafter *I. fumosorosea* and *B. bassiana* the most frequently occurred. *M. anisopliae* whereafter *B. bassiana* and *I. fumosorosea* were dominant in the soils from meadows and pastures. In soil from semi-natural habitats like shelterbelts, field afforestations, balks or fallows – the most frequently *I. fumosorosea* and *B. bassiana* were isolated. In the soil and litter samples from forest habitats decidedly dominated *B. bassiana*. The infective potential and density of entomopathogenic fungi was significantly higher in soils from semi-natural habitats such as shelterbelts or balks than in neighbouring large-area arable fields. Moreover semi-natural habitats, especially shelterbelts, are characterized by more abundant fungal species composition, being peculiar refuges for their persistence in the agroecosystem. No-till cultivation system positively affected as well species diversity, density of infective units of entomopathogenic fungi in the soil. Long-term manure fertilization was favourable to population of entomopathogenic fungi in the soil but the use of high doses of mineral fertilization (NPK) for a long time, caused decline of CFU density of these fungi. Long time use of pesticides, significantly reduced density and pathogenicity of entomopathogenic fungi in soil.

**Wpływ uszkodzenia liści przez szrotówka kasztanowcowiaczka
(*Cameraria ohridella*) na mykoryzę kasztanowca białego
(*Aesculus hippocastanum* L.)**

Jolanta Tyburska^{1*}, Kinga Nowak-Dyjeta², Barbara Kieliszewska-Rokicka¹

¹Katedra Mikologii i Mikoryzy, Instytut Biologii Środowiska
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego

al. Ossolińskich 12, 85-093 Bydgoszcz; *jola@ukw.edu.pl

²Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Parkowa 5, 62-035 Kórnik

W ostatnich latach drzewa kasztanowca białego w wielu rejonach Europy, w tym również w Polsce, są atakowane przez szrotówka kasztanowcowiaczka. Larwy tego owada wygryzają w liściu miękisz asymilacyjny, co prowadzi do redukcji aktywności fotosyntetycznej i przedwczesnego zamierania liści. Kasztanowiec nawiązuje symbiozę mykoryzową z grzybami arbuskularnymi, które są zależne od produktów fotosyntezy transportowanych z liści do korzeni. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu uszkodzeń liści, powodowanych przez szrotówka kasztanowcowiaczka, na mykoryzę kasztanowca. Porównano korzenie młodych (ok. 30-letnich) drzew rosnących w Arboretum Kórnickim po dwóch stronach wąskiej alejki. Drzewa rosnące po jednej stronie są rokrocznie atakowane przez szrotówka, a ich liście zamierają w połowie lata. Drzewa rosnące po drugiej stronie nie są atakowane przez tego owada i zachowują zdrowe liście do późnej jesieni. Do pni tych ostatnich drzew wstrzyknięto 6 lat przed wykonaniem badań, jednorazowo, preparat przeznaczony do zwalczania szrotówka. Próby korzeniowe pobrano 5 maja i 5 listopada 2012 r. Wyniki pokazały, że intensywność kolonizacji mykoryzowej

była istotnie wyższa, zarówno w maju, jak i w listopadzie, w korzeniach kasztanowców, na których żeruje szrotówek. Ponadto w listopadzie w korzeniach drzew atakowanych przez szkodnika obfitość arbuskul była wyższa niż w korzeniach zdrowych drzew.

**Effect of leaf damage caused by leaf-miner *Cameraria ohridella*
on mycorrhiza of *Aesculus hippocastanum***

Jolanta Tyburska^{1*}, Kinga Nowak-Dyjeta², Barbara Kieliszewska-Rokicka¹

¹Institute of Environmental Biology, Kazimierz Wielki University
12 Ossolińskich Av., PL-85-093 Bydgoszcz; *jola@ukw.edu.pl

²Institute of Dendrology Polish Academy of Sciences
5 Parkowa Str., PL-62-035 Kórnik

In the last decades in many parts of Europe, including Poland, horse chestnut trees have been attacked by horse chestnut leaf miner. The larva of this insect feeds in a mine in the leaves of, leading to reduction photosynthetic activity and premature leaf dieback. *Aesculus hippocastanum* form mycorrhizal symbiosis with arbuscular fungi, which are dependent on photoassimilates transported from leaves to the roots. The aim of this study was to observe the influence of leaf damage caused by *Cameraria ohridella* on mycorrhizal colonization of the *A. hippocastanum* roots. We compared roots of about 30-year-old trees growing on both sides of a narrow alley in the Kórnik Arboretum. The trees growing on the one side of the alley have been attacked year by year by *Cameraria ohridella* and their leaves have had autumnal appearance in the middle of summer. The trees growing on the other side haven't been attacked by the insect and their leaves usually remain healthy until late autumn. Six years before this study was conducted, these trees were treated with a one-time trunk injection therapy, and the other trees were not. Root samples for mycorrhiza evaluation have been taken under tree canopies at 5th May and 5th November 2012 and arbuscular mycorrhizal structures were quantified in the roots. The results indicated that mycorrhizal intensity was significantly higher, both in May and in November, in roots of the trees attacked with foliage-damaging leaf miners than in root of the healthy trees. Moreover, in November a higher intensity of arbuscules in roots of the insect-attacked trees was observed.

**Bogactwo gatunkowe i zróżnicowanie taksonomiczne śluzowców
w wybranych rejonach Polski**

Dorota Wieczorkiewicz*, Dominika Ślusarczyk,

Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska

Katedra Algologii i Mykologii, Uniwersytet Łódzki

ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; *dwieczorkiewicz@tlen.pl

Śluzowce (dawniej Myxomycetes, obecnie Myxogastria) są niezwykle interesującymi organizmami, które wykazują cechy typowe dla zwierząt, roślin i grzybów. Obecnie zaliczane są one do królestwa Protozoa (Mycetozoa, Kirk

et al. 2008). Większość gatunków śluzowców związana jest ze środowiskiem leśnym, choć nie jest to regułą, bo występują one także na łąkach, polach, torfowiskach, a nawet w miastach – w parkach, na trawnikach i w ogródkach przydomowych. Generalnie śluzowce preferują wilgotne i pozbawione bezpośredniego nasłonecznienia miejsca, gdzie gromadzi się martwa materia organiczna, powalone drzewa i ich gałęzie, a w szczególności butwiejące drewno, co ma związek z wymaganiami pokarmowymi tych organizmów. Większość śluzowców nie wykazuje preferencji w stosunku do podłoża i może występować w bardzo różnych siedliskach i warunkach, jak np. *Fuligo septica*. Istnieje jednak grupa śluzowców stenotopowych, o sprecyzowanych wymaganiach w stosunku do podłoża, na którym tworzą owocowania, na przykład *Amaurochaete atra* występuje najczęściej na stojących, martwych sosnach.

Początki badań nad śluzowcami na terenie Polski sięgają 1787 roku. Wówczas J. K. Kluk wymienił dwa gatunki śluzowców i nadał im polskie nazwy – oba nazwał „pleśniami”. Były to „pleśń stemplowy” *Mucor embolus* (obecnie *Comatrachia nigra*) oraz „pleśń gnojowy” *Mucor septicus* (= *Fuligo septica*). Obecnie, po prawie 230 latach, w naszym kraju znane są 222 gatunki śluzowców (Drozdowicz et al. 2003), jednak stopień ich poznania w różnych częściach Polski jest bardzo zróżnicowany. Osiemdziesiąt dwa gatunki mają status zagrożonych wyginięciem, a trzydzieści dwa z nich (39%) zostały odnotowane tylko na jednym stanowisku w Polsce (Drozdowicz et al. 2006).

Celem pracy jest przedstawienie stopnia poznania śluzowców w różnych regionach Polski. Analizie poddano pochodzące z literatury informacje dotyczące siedmiu obszarów, szczególnie dobrze poznanych po względem występowania śluzowców. Są to Wigierski Park Narodowy, Dolny i Górny Śląsk (rezerwat „Przełomy pod Książem koło Wałbrzycha”, „Ochojec” w Katowicach i rezerwat leśno-stawowy „Łęczczok” koło Raciborza), Polskę środkową (okolice Łodzi), Ojcowski Park Narodowy (zwłaszcza Wąwóz Korytania), Karpaty (Beskid Śląski i Pieniny), Puszcza Niepołomska (rezerwat Lipówka; Drozdowicz et al. 2012) oraz Magurski Park Narodowy.

Najwięcej gatunków podano dotąd z Wigierskiego Parku Narodowego. Inwentaryzacja Parku (Panek, Romański 2010) pozwoliła stwierdzić występowanie 124 gatunków na 2 956 stanowiskach, w tym 13 gatunków zagrożonych w skali Polski. W Wigierskim PN stwierdzono także największe zróżnicowanie taksonomiczne śluzowców, co wiąże się ze znaczną powierzchnią parku i dużym zróżnicowaniem siedlisk (również tereny nieleśne i akweny). Do bogatych w śluzowce obszarów należą także Dolny i Górny Śląsk, gdzie w trzech rezerwatach zaobserwowano 35 (Magiera, Magiera 2009), 59 (Stojanowska, Panek 2002) i 89 (Stojanowska, Panek 2004a, b) gatunków śluzowców. Znaczna liczba gatunków wiąże się m.in. z nagromadzeniem martwego drewna w różnych stadiach rozkładu i pochodzącego z różnych gatunków drzew. Najwięcej taksonów śluzowców zostało stwierdzonych na butwiejącym drewnie drzew liściastych (50 gatunków), w tym głównie na *Fagus sylvatica* (33). Zaskakujące jest, że kilka gatunków z rodzaju *Cribaria*, związanych z butwiejącym drewnem drzew iglastych zostało tam znalezionych na drewnie lipowym (Stojanowska, Panek

2004a, b).

Niewiele publikacji dotyczy Obszaru Polski Środkowej (Ławrynowicz et al. 2011). W pierwszej pracy, autorstwa Orzechowskiego (1966), podano dane o 44 gatunkach zaobserwowanych w latach 1958-1963 na terenach leśnych Łodzi i okolic. Autor ten zwrócił uwagę na związki śluzowców z konkretnym gatunkiem drzewa oraz prawdopodobnie niewielką wrażliwość niektórych taksonów na zanieczyszczenia środowiska (stwierdzano je w pobliżu Zakładów Chemicznych). W ostatnim podsumowaniu wszystkich danych o śluzowcach Polski środkowej (Ławrynowicz et al. 2011) wymieniono 84 gatunki, z których pięć znajduje się na Czerwonej liście gatunków zagrożonych (Drozdowicz et al. 2006).

Niewiele mniejszą liczbę gatunków (77) stwierdzono na terenie Wąwozu Korytania (Ojcowski Park Narodowy), w tym 49 taksonów rzadkich oraz bardzo rzadkich. Należą do nich m.in. *Physarium leucopus*, *Ph. licheniforme* oraz *Ph. sessile* (Drozdowicz et al. 2007). Natomiast najuboższym w śluzowce lub najslabiej poznany obszar okazał się Magurski Park Narodowy, na terenie którego odnotowano 54 gatunki, z których jednak aż 14 (26%) uważa się za rzadkie w Polsce (Drozdowicz 2009).

Stan poznania bioty śluzowców w Polsce jest znaczny, lecz konieczne jest zbadanie wielu innych rejonów niż wymienione, zwłaszcza tych bogatych w mikronisze sprzyjające rozwojowi śluzowców. W przypadku większości badań, obok gatunków częstych notuje się także taksony bardzo rzadkie lub nieznanne w innych częściach Polski. Na przykład *Cribraria persoonii*, *Arcyria minuta* i *Symphytocarpus flaccidus* występują wyłącznie na Śląsku (Stojanowska, Panek 2004a, b), *Stemonitopsis gracilis* znaleziono po raz pierwszy w Karpatach Zachodnich (Bochynek, Drozdowicz 2011), a *Reticularia jurana* w Magurskim Parku Narodowym (Drozdowicz 2009). Bardzo prawdopodobne jest odnalezienie większej liczby interesujących gatunków w ramach dalszych badań, które przyczynią się również do lepszego poznania ekologii i rozmieszczenia śluzowców.

Species richness and taxonomic diversity of slime moulds in some regions of Poland

Dorota Wieczorkiewicz*, Dominika Ślusarczyk

& Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska

Department of Algology and Mycology, University of Lodz

12-16 Banacha St., PL-90-237 Łódź; *dwieczorkiewicz@tlen.pl

Slime moulds (Myxogastria, formerly Myxomycetes) are very interesting organisms that exhibit features typical for animals, plants and fungi. Currently, they are classified in the kingdom Protozoa (Mycetozoa, Kirk et al. 2008). Majority of slime mould taxa is associated with the forest environment, although it is not a rule, because they also occur in meadows, fields, bogs, and even in cities – in parks, at lawns and backyard gardens. Generally, slime moulds prefer places which are moist and devoid of direct sunlight, abundant in dead organic matter, fallen trees and branches, and in particular rich in

rotting wood. Most slime moulds have no preference for the substrate type and occur in a variety of habitats and niches, e.g. *Fuligo septica*. However, there is a group of stenotopic taxa which have precise requirements toward a substrate on which they form fruiting bodies, e.g. *Amaurochaete atra* is usually associated with standing dead pines.

The earliest information about slime moulds in Poland dates back to 1787. Then, J. K. Kluk mentioned two species of slime moulds and gave them Polish names – both termed ‘mould’. These were the ‘stamp mould’ *Mucor embolus* (now *Comatrachia nigra*) and ‘manure mould’ *Mucor septicus* (= *Fuligo septica*). Currently, about 230 years later, 222 species are known in Poland (Drozdowicz et al. 2003), but the knowledge of slime moulds is diverse in particular regions. In total, 82 species were red listed, including 32 taxa (39%) known from a single locality (Drozdowicz et al. 2006).

The aim of the survey is to present the degree of knowledge of slime moulds in seven, selected regions of Poland: Wigierski National Park, Upper and Lower Silesia (nature reserves ‘Przełomy pod Książem near Wałbrzych’, ‘Ochojec’ in Katowice, and “Łęczczok” near Racibórz), central Poland (vicinity of Łódź), Ojców National Park (mainly Wąwóz Korytania ravine), Carpathians (Silesian Beskids and Pieniny), Puszcza Niepołomska old-growth forest (Lipówka reserve; Drozdowicz et al. 2012), and Magura National Park.

So far, the greatest number of species has been recorded in Wigierski National Park. The inventory of slime moulds of the park (Panek, Romański 2010) revealed the presence of 124 species at 2956 sites, including 13 species end angered in Poland. The greatest taxonomic diversity of slime moulds was also found in Wigierski NP, which is due to its large area and variety of habitats (including non-forest areas and water bodies). Silesia also belongs to the regions rich in slime moulds. Many taxa were observed in two nature reserves in this area: 35 species in Lower Silesia (Magiera, Magiera 2009), 89 in ‘Przełomy pod Książem near Wałbrzych’ (Stojanowska, Panek 2004a, b) and 59 in ‘Łęczczok’ near Racibórz (Stojanowska, Panek 2002) in Upper Silesia. That abundance of slime moulds is associated with an accumulation of dead wood originating from diverse tree species and various stages of its decay. The largest number of taxa was found on rotting wood of deciduous trees (50 species), mostly on *Fagus sylvatica* (33). Surprisingly, several *Cribraria* species, usually associated with rotting coniferous wood, were found on wood of *Tilia* (Stojanowska, Panek 2004a, b).

Central Poland is another region with diverse slime moulds biota (Ławrynowicz et al. 2011). Paper by Orzechowski (1966) was the first of few publications referring to this area. In total, 44 species observed in 1958-1963 in the forests of Łódź and its vicinity were listed. Orzechowski (1966) mentioned the association of slime moulds and particular tree species and suggested also small sensitivity of some taxa to environmental pollution. 84 species were listed in the recent survey of data on slime moulds in central Poland (Ławrynowicz et al. 2011). Five of them are included in the Polish Red list (Drozdowicz et al. 2006).

Slightly lower numbers of slime mould were reported from other regions. 77 species were found in 2004 in the Wąwóz Korytania ravine (Ojców

National Park), including 49 rare and very rare taxa, i.e. *Physarium leucopus*, *Ph. licheniforme* and *Ph. sessile* (Drozdowicz et al. 2007). The Magura National Park seems to be the poorest or least-studied area, with 54 species recorded there. However, 14 taxa (26%) are considered to be rare in Poland (Drozdowicz 2009)

The state of knowledge of slime moulds distribution in Poland is quite comprehensive. However, it is still necessary to examine areas rich in micro-niches supporting development of those organisms. Majority of Polish reports, beside common species lists also taxa very rare or unknown in other parts of the country. Such species as *Cribraria persoonii*, *Arcyria minuta* and *Symphytocarpus flaccidus* occur only in Silesia (Stojanowska, Panek 2004a, b), *Stemonitopsis gracilis* was found for the first time in the Western Carpathians (Bochynek, Drozdowicz 2011) while *Reticularia jurana* in Magura National Park (Drozdowicz 2009). It is very likely to find more interesting species as a result of further research which will also contribute to better understanding of slime moulds ecology and biogeography.

Bochynek A., Drozdowicz A. 2011. Martwe drewno, jako mikrosiedlisko śluzowców w wybranych zbiorowiskach leśnych w polskich Karpatach. Roczniki Bieszczadzkie 2011 (19): 165-179.

Drozdowicz A. 2009. Śluzowce. Przyroda Magurskiego Parku Narodowego. Krempna – Kraków: 91-95.

Drozdowicz A., Paczyńska G., Pięta M. 2007. Zmiany w biocie śluzowców (*Myxomycetes*) Wąwozu Korytania w Ojcowskim Parku Narodowym. Prądnik. Prace i materiały Muzeum im. Prof. Władysława Szafera 17: 61-70.

Drozdowicz A., Ronikier A., Stojanowska W. 2006. Red list of rare *Myxomycetes* in Poland. In: Z. Mirek, K. Zarzycki, W. Wojewoda, Z. Szeląg (ed.). Red list of plants and fungi in Poland. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków: 91–99.

Drozdowicz A., Ronikier A., Stojanowska W., Panek E. 2003. *Myxomycetes* of Poland. A checklist. In: Z. Mirek (ed.). Biodiversity of Poland. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków, vol. 10, 103 pp.

Drozdowicz A., Szolc P., Bochynek A., Salamaga A. 2012. *Myxomycetes* of the Lipówka reserve in the Niepołomice Old Growth Forest (S Poland). Acta Mycol. 47 (1): 97-107.

Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. 2008. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 10 the Edition. CABI Europe, UK.

Ławrynówicz M., Ślusarczyk D., Salamaga A. 2011. Revised data on the occurrence of myxomycetes in Central Poland. Acta Mycol. 46 (2): 223-232.

Magiera A., Magiera K. 2009. Śluzowce rezerwatu przyrody „Ochojec”. Rezerwat przyrody „Ochojec” w Katowicach (Górny Śląsk). Monografia naukowo dydaktyczna. Katowice: 79-85.

Orzechowski T. 1966. Śluzowce stwierdzone w okolicach Łodzi oraz parkach łódzkich [Myxomycetes collected in the District and in the Parks of Łódź]. Frag. Flor. et Geobot. 12 (2): 209-214.

Panek E., Romański M. 2010. Śluzowce *Myxomycetes*. In: L. Krzysztofiak (ed.). Śluzowce *Myxomycetes*, grzyby *Fungi* i mszaki *Bryophyta* Wigierskiego Parku Narodowego. Stowarzyszenie Człowiek i Przyroda, Suwałki: 9-22.

Stojanowska W., Panek E. 2002. Changes in the myxomycete biota of 'Łęczczok' nature reserve near Racibórz (SW Poland). Acta Mycol. 37 (2/1): 13-28.

Stojanowska W., Panek E. 2004a. Myxomycetes of the nature reserve near Wałbrzych (SW Poland) Part II. Dependence on the substrate and seasonality. Acta Mycol. 39 (2): 147-159.

Stojanowska W., Panek E. 2004b. Myxomycetes of the nature reserve near Wałbrzych (SW Poland) Part I. List of taxa and quantitative analysis. Acta Mycol. 39 (1): 47-63.

Rtęć w sklerotach grzyba *Wolfiporia extensa* (Peck) Ginns

Anna Wiejak¹, Yuanzhong Wang², Ji Zhang², Jerzy Falandysz¹

¹Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

²Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences
Kunming, China

Celem badań było poznanie stanu zanieczyszczenia rtęcią (Hg) sklerot grzyba *Wolfiporia extensa* (Peck) Ginns. Sklerota tego grzyba w Chinach są używane jako środek leczniczy i jako składnik produktu – przekąski *Fuling jiabing*. W piśmiennictwie naukowym brak jest informacji o składzie mineralnym sklerot *W. extensa*. Materiał do badań pozyskano z 19 przestrzennie oddalonych od siebie miejsc na terenie Yunnanu w lipcu 2012 r. Oznaczenia Hg wykonano, stosując sprawdzoną metodykę techniką zimnych par bezpłomieniowej spektroskopii absorpcji atomowej – po spopieleniu sklerotium w analizatorze rtęci typ MA-2. Każdą partię wysuszonych i sproszkowanych sklerotów (oryginalna masa 1-5 kg) analizowano w 3-4 powtórzeniach. Zawartości Hg ogółem w sklerotach *W. extensa* mieściła się w zakresie od 0,0041 do 0,019 mg/kg masy suchej, co wskazuje na słabe nagromadzenie tego metalu w sklerotach przez grzyba. Brak było zależności pomiędzy zawartością Hg w sklerotach, a miejscem ich pozyskania w zależności od wysokości położenia miejsca nad poziomem morza czy rejonu Yunnanu. Spożywanie dziennie 50 g porcji sklerot jest równoważne pobraniu Hg w dawce do 0,00095 mg (zakładając maksymalne zanieczyszczenie, tj. 0,019 mg/kg masy suchej), czyli do 0,000016 mg w przeliczeniu na 1 kg masy ciała dla osoby o masie ciała wynoszącej 60 kg. Sklerota zawarte w produkcie *Fuling jiabing*, zjadanym codziennie przez tydzień (7x50 g), wnosi do 0,00665 mg Hg, czyli tygodniowo 0,00011 mg na kg masy ciała. Obie wyliczone wartości są znacznie poniżej dawki referencyjnej (RfD), wynoszącej 0,0003 mg/kg masy ciała dziennie i dawki tymczasowo tolerowanego tygodniowego pobrania (PTWI) Hg ogółem wynoszącej 0,004 mg/kg masy ciała, a mniej preparat leczniczy (dekoktum) sporządzony na bazie sklerot.

Mercury in sclerotia of *Wolfiporia extensa* (Peck) Ginns mushroom

Anna Wiejak¹, Yuanzhong Wang², Ji Zhang², Jerzy Falandysz¹

¹Faculty of Chemistry, University of Gdańsk

63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

²Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences
Kunming, China

The fungus species *Wolfiporia extensa* (Peck) Ginns is a wood-decay fungus in the Polyporaceae family with a terrestrial growth habit. Sclerotium of *W. extensa* is widely used in traditional Chinese medicine and in making "Fuling jiabing" – a kind of traditional snack food of Beijing (Bensky et al. 2004; Rios 2011; Wang et al. 2013). There are no data available on toxic mercury (Hg) in sclerotia of *W. extensa*. This study aimed to investigate the occurrence and evaluate data on mercury in sclerotia of *W. extensa* collected from Yunnan in China and assess possible intake and risk from this element for individuals eating *Fuling jiabing* snacks or taking decoctions and for which scientific data are absent.

Sclerotia of *Wolfiporia extensa* (Peck) Ginns were collected from places located at 1371 to 2061 m above sea level in Yunnan (China) in 2012. The inner part of sclerotium that was of white color and free of skin or pine roots was taken for analyses. Sclerotia were dried at 105 °C and ground to fine powder using porcelain mortar. Sub-samples (each ca. 100 g) of bulk samples of sclerotia were used in Hg determinations by cold-vapour atomic absorption spectroscopy (CV-AAS) after direct sample matrix combustion. Each sample of sclerotium was examined in triplicate. The analytical procedure used was subjected to analytical control and quality assurance (AC/QA) using blank samples checks and analysis of fungal certified reference materials of known Hg content.

Sclerotia of fungus *W. extensa* examined in this study contained Hg at 0,0041 to 0,019 mg/kg dry matter (dm), while the median value was 0,011 mg/kg dm and an overall mean was 0,011±0,004 mg/kg dm. These values can be considered low if compared to records on Hg contents of fruit bodies of many species of mushrooms (*Macromycetes*) collected from the areas unpolluted with heavy metals in Europe. The absolute values of Hg content in sclerotia varied between the places in Yunnan and no relationship was found with the site's altitude above the sea level or its geographical latitude. The assessed intake of mercury by adult who eats 50 g of sclerotium contained in the *Fuling jiabing* snack would be between 0,00055 mg to 0,0000092 mg per kg body mass, which is low intake.

Two factors can be considered that can influence both intake and risk of Hg contained in edible fungal products. One is the impact of cooking (blanching) and decocting in case of medicinal mushrooms and the corresponding selenium (Se) content, considering that Se have a protective role against the toxic actions of Hg contained in foods and natural medicines. From available literature, no data could be found on the Se content of sclerotia or fruit bodies of *W. extensa*. Bleaching (keeping in boiling water) for 10 minutes reduces Hg content of fruit bodies only by 10-20% compared to the Hg content of original

dried fruit bodies. If the clinical dosage of the sclerotia of *W. extensa* is up to 45 g and assuming that to prepare a decocted medicinal formulation the procedure is similar but less rigorous compared to blanching, the content of leached Hg in the decoct could be only 10-20% of its original content in medicinal substrate. Hence, Hg intake could be even much less if compared to eating the *Fuling jiabing* snack.

This study in part was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31260496, 31160409).

Bensky D., Clavey S., Stoger E. & Gamble A. 2004. Chinese Herbal Medicine Materia Medica. 3rd edition. Scattle (WA): Eastland Press Inc.

Ríos J.L. 2011. Chemical constituents and pharmacological properties of *Poria cocos*. *Planta Medica*, 77: 681-691.

Wang Y., Zhang J., Zhao Y., Tao L., Tao S., Li J., Li W. & Liu H. 2013. Mycology, cultivation, traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Wolfiporia cocos* (Schwein.) Ryvarden et Gilb.: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 145: 265-276.

Stan zbadania grzybów z rodzaju *Septoria* w Polsce

Agata Wołczańska

Zakład Botaniki i Mykologii, Instytut Biologii i Biochemii UMCS
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin; agata.wolczanska@poczta.umcs.lublin.pl

Rodzaj *Septoria* należy do najobfitszych w gatunki wśród grzybów anamorficzných. Według ostatniego wydania „Dictionary of the Fungi” z 2008 roku opisano dotąd 1072 gatunki, lecz szacunkowe dane wskazują, że może ich być nawet 2000. Są to przede wszystkim pasożyty roślin nasiennych, ale mogą infekować także glony, mchy, paprotniki i grzyby z rzędu Uredinales (Pucciniales).

W Polsce przez ponad 120 lat badań nad tymi grzybami stwierdzono występowanie 232 taksonów. Tylko jeden gatunek zanotowano na paprotnikach, pozostałe na roślinach okrytozalążkowych, przy czym na dwuliściennych znaleziono 204 taksony, a na jednoliściennych tylko 27. Ogólna liczba ich żywicieli wynosi 412. Najwięcej grzybów atakuje przedstawicieli rodzin: Asteraceae (32 gatunki), Apiaceae (15), Lamiaceae (14), Poaceae (13), Caryophyllaceae (12), Ranunculaceae (12) i Rosaceae (12). Natomiast na roślinach z 38 rodzin zebrano tylko po jednym gatunku. Większość stwierdzonych w Polsce grzybów to taksony bardzo rzadkie i rzadkie (znane z 1-10 stanowisk), np. *Septoria linnaeae* na *Linnaea borealis* i *S. asari* na *Asarum europaeum*. Natomiast do najpospolitszych należą: *S. aegopodii*, *S. polygonorum*, *S. scabiosicola* oraz pasożyty roślin uprawnych i użytkowych, np. *S. pyricola* na gruszach, *S. apiicola* na selerach.

Obecność w środowisku grzybów z tego rodzaju, podobnie jak innych pasożytów roślin, wyznacza sezon wegetacyjny. Pierwsze gatunki pojawiają się w kwietniu (13), optimum rozwoju osiągają w sierpniu i wrześniu (137 i 133), a w październiku i listopadzie liczby taksonów gwałtownie maleją (75 i 15).

Stan zbadania grzybów z rodzaju *Septoria* w Polsce jest bardzo

zróżnicowany w poszczególnych regionach. Najwięcej danych pochodzi z: południowej części Krainy Mazowiecko-Podlaskiej, Krainy Północnopodlaskiej, Pienin i Tatr oraz Jury Krakowsko-Częstochowskiej.

Results of the study on *Septoria* in Poland

Agata Wolczańska

Department of Botany and Mycology
Institute of Biology and Biochemistry UMCS
19 Akademicka St., PL-20-033 Lublin
agata.wolczanska@poczta.umcs.lublin.pl

Microscopic parasitic fungi from the genus *Septoria* are a numerous and interesting group of anamorphic fungi. According to the latest edition of the “Dictionary of the fungi” from 2008, there are ca. 1072 known species, but estimates indicate that the number could be as large as 2000. The fungi infect primarily spermatophytes, particularly angiosperms, although they have been found on algae, bryophytes, ferns and, fungi from the order Uredinales (Pucciniales).

In Poland, 232 taxa have been reported during over 120 years of research on these fungi: only one species was found on ferns and another one on angiosperms (204 taxa were found on dicots and only 27 on monocots). The general number of their hosts amounts to 412. The biggest number of the fungi have been collected from representatives of the families Asteraceae (32 species), Apiaceae (15), Lamiaceae (14), Poaceae (13), Caryophyllaceae (12), Ranunculaceae (12), and Rosaceae (12). A majority of the species are very rare and rare taxa (known from 1-10 localities), e.g. *Septoria linnaeae* on *Linnaea borealis* and *S. asari* on *Asarum europaeum*. The most common are *S. aegopodii*, *S. polygonorum*, and *S. scabiosicola* as well as parasites of crop and useful plants, e.g. *S. pyricola* on pear and *S. apiicola* on celery.

The presence of fungi from the genus *Septoria* and other plant parasites is determined by the vegetation season. The earliest species occur in April (13) and they achieve their development optimum in August and September (137 and 133), whereas in October and November the number of taxa declines rapidly (75 and 15).

The level of exploration of the *Septoria* fungi in Poland varies considerably between the regions. The most substantial data have been reported from Kraina Południowomazowiecko-Podlaska, Kraina Północnopodlaska, the Pieniny and Tatra Mountains, and Jura Krakowsko-Częstochowska.

***Boletus projectellus* (Murrill) Murrill w Polsce – czy może stanowić zagrożenie dla krajowych mykocenoz?**

Marta Wrzosek¹, Michał Gorczak¹, Julia Pawłowska¹, Mateusz Wilk²

¹Zakład Systematyki i Geografii Roślin, Wydział Biologii,
Uniwersytet Warszawski, Al. Ujazdowskie 4, 00-478 Warszawa

²Kolegium Międzywydziałowych Indywidualnych Studiów
Matematyczno-Przyrodniczych, Uniwersytet Warszawski
ul. Żwirki i Wigury 93, 02-089 Warszawa

Boletus projectellus (Murrill) Murrill został opisany w 1938 roku jako *Ceromyces projectellus*, po czym jego nazwa rodzajowa została zmieniona na obecnie przyjętą. Typ – zebrany przez Williama A. Murrilla ze ściółki w lesie sosnowym w Lynchburgu (Virginia), w sierpniu 1928, zdeponowany został w herbarium Eksperymentalnej Stacji Rolniczej na Florydzie pod numerem F.9296 (Murrill, 1938). W opisie oryginalnym wskazuje się na cechy charakterystyczne, pozwalające na bezbłędne odróżnienie od innych borowikowatych: wypukły, nigdy niewypłaszczający się całkowicie, szeroki i dość gruby kapelusz, suchą, gładką, rudawą skórę o nieco zamszowej strukturze, która tworzy zwisającą falbankę na krawędzi kapelusza. Przekrój przez grzyb ma odcień różowawy i barwa ta nie zmienia się pod wpływem utlenienia. Wąskie rurki mają kolor od jaskrawożółtego do żółtozielonego, a hymenofor jest nieco zapadnięty dokoła trzonu. Zarodniki tego grzyba są zdecydowanie dłuższe niż u większości rodzimych borowikowatych – są sztywno wydłużone, żółto-brązowe o wymiarach 23-27,5 µm x 7-9,5 µm. Trzon suchy, smukły, nieco zwężający się ku górze ma odcień żółtawy lub brzoskwiniowy. Jego ornament składa się z wydłużonych wertykalnie poolek, które w szczytowej części łączą się tworząc sieć. Grzyb ten jest szeroko rozpowszechniony we wschodnich stanach USA. Zachodni kraniec jego występowania stanowi Michigan, a północny – kanadyjski New Brunswick. Komisja nazewnictwa PTMYK w styczniu 2014 roku nadała grzybowi lokalną nazwę, która brzmi borowik wysmukły. We wrześniu 2013 roku po raz pierwszy jego populacje zostały znalezione na terenie Polski w zbiorowiskach *Cladonio-Pinetum* i *Empetro-nigri pinetum*. Obecnie znane są jego trzy stanowiska – dwa w rejonie Białogóry i jedno w rejonie wydmy lubiatowskiej (woj. pomorskie). Miejscowa ludność zarówno w Białogórze jak i Lubiatowie potwierdza obserwacje nowego, nieznanego dotychczas borowika. Analiza sekwencji ITS z próbki pobranej z owocników potwierdziła identyfikację gatunkową. Na wszystkich stanowiskach znaleziono liczne owocniki. *Boletus projectellus* został zaobserwowany na terenie Litwy po raz pierwszy pod koniec XX wieku, a jest monitorowany przez tamtejszych mykologów od 2007 roku (Motiejunaite in. 2011). Był notowany na wydmach zalesionych sosną kosodrzewiną *Pinus mugo* na mierzei kurońskiej w latach 2008 i 2009 (Kutorga et al. 2012). Od niedawna obserwuje się go również na Tajwanie oraz na Madagaskarze (Chen 1998; Baohanta 2012). Jest uznawany za gatunek zdolny do wchodzenia w relacje mykoryzowe z różnymi drzewami: *Pinus mugo*, *Pinus sylvestris* i drzewami liściastymi. Obecnie prowadzone są badania mykoryz na stanowiskach *B. projectellus*, które pomogą odpowiedzieć na

pytanie: czy borowik wysmukły nie będzie zagrożeniem dla rodzimej mykobioty, bowiem zachodzi prawdopodobieństwo konkurencyjnego wypierania grzybów rodzimych między innymi chronionego *Suillus flavidus*, który w Rezerwacie Białogóra zajmuje te same nisze ekologiczne.

Projekt był finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach grantu NN_303 548 839.

***Boletus projectellus* (Murrill) Murrill in Poland – a possible threat for a natural pine wood mycocoenosis?**

Marta Wrzosek¹, Michał Gorczak¹, Julia Pawłowska¹, Mateusz Wilk²

¹Department of Systematics and Plant Geography, Faculty of Biology, University of Warsaw, 4 Ujazdowskie Av., PL-00-478 Warszawa

² Inter-Faculty Interdisciplinary Doctoral Studies in Natural Sciences and Mathematics, University of Warsaw, 93 Żwirki i Wigury, PL-02-089 Warszawa

Boletus projectellus was described by Murrill as *Ceratomyces projectellus* in 1938. Type specimen collected by the author among leaf-mold in pine wood at Lynchburg in 1928 was deposited in the Herbarium of the Florida Agricultural Experiment Station under no. F. 9296. In original description some features are mentioned as diagnostic ones: convex, large and wide pileus; minutely tomentose, reddish surface, with margin broadly sterile and overhanging like the edge of roof (Murrill, 1938). Flesh is pinkish or whitish and not staining on exposure. Pore surface is usually yellow or olive and slightly depressed around stem. Brownish spores are remarkably long and reach $23\text{--}27.5\ \mu\text{m} \times 7\text{--}9.5\ \mu\text{m}$. Slender dry and yellowish stem is ridge-like or net-like ornamented. The fungus is widely distributed under pines in eastern North America and in Michigan. The first Polish populations of *Boletus projectellus* were found in September 2013 in *Cladonio-Pinetum* and *Empetro-nigri pinetum*. We documented its presence in three localities – two in Białogóra Reserve and one in the region of Lubiatowo Dune. All are located in Pomorskie Province. Local villagers, both from Białogóra and Lubiatowo, confirmed observations of a new, hitherto unknown boletoid fungus. Sequence analysis of DNA internal transcribed spacers (ITS rDNA) from two fruitbodies confirmed morphological identification. Carpophores were abundant on all stands. *Boletus projectellus* was observed for the first time in Europe on the territory of Lithuania in the late twentieth century, and is monitored there by mycologists since 2007 (Motiejunaite et al. 2011). It was noticed on the dunes of Curonian Spit in mycorrhizal relations with *Pinus mugo* in 2008 and 2009 (Kutorga et al. 2012). It was also observed as a new and probably invasive species on Taiwan and Madagascar (Chen 1998, Baohanta 2012). It is known as a fungus switching easily the host tree species. In Lithuania it forms mycorrhizae with *Pinus mugo* and *Pinus silvestris*, and in Taiwan and Madagascar with broadleaved trees (Motiejunaite et al. 2011; Baohanta 2012). Currently ongoing research will focus on understanding whether *B. projectellus* could be a competitor for native fungi, among others *Suillus flavidus*, which occupies the same ecological niches in the Białogóra Reserve.

The study was supported by Polish Ministry of Science and Higher

Baohanta R., Thioulouse J., Ramanankierana H., Prin Y., Rasolomampianina R., Baudoin Ezékiel, Rakotoarimanga N., Galiana A., Randriambanona H., Lebrun Michel, Duponnois Robin. 2012. Restoring native forest ecosystems after exotic tree plantation in Madagascar: combination of the local ectotrophic species *Leptolena bojeriana* and *Uapaca bojeri* mitigates the negative influence of the exotic species *Eucalyptus camaldulensis* and *Pinus patula*. *Biological Invasions*, 14 (11): 2407-2421.

Chen Ch. M., Yeh K. W., Hsu H. K. 1998. The *Boletes* of Taiwan (X). *Taiwania*, 43 (2): 140-149.

Kutorga E., Adamonytė G., Iršėnaitė R., Kasparavičius J., Markovskaja S., Motiejūnaitė J., Treigienė A. 2012. A checklist of mycobiota recorded in burnt and unburnt *Pinus mugo* plantations in the Curonian Spit (Lithuania) *Bot. Lith.*, 18(1): 66-79.

Motiejūnaitė J., Kasparavičius J., Kačergius A., (2011). *Boletellus projectellus* – mycorrhizal bolete new to Europe. *Sydowia*, 63: 203-213.

Murrill W.A., (1938). New *Boletes*. *Mycologia*, 30 (5): 525.

Nuklidy ^{137}Cs i ^{40}K w owocnikach maślaka sitarza

Tamara Zalewska¹, Gabriela Jurkiewicz², Anna Śliwińska¹, Jerzy Falandysz²

¹Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej, Oddział Morski w Gdyni
ul. Waszyngtona 42, 81-342 Gdynia

²Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

W trzeciej dekadzie po katastrofie nuklearnej w Czarnobylu, w 1986 roku grzyby na terenie Polski i innych krajów europejskich pozostają zanieczyszczone promieniotwórczym cezem (^{137}Cs) (Rühm et al. 1997; Strandberg 2004; Mielinski et al. 2010). Zdolność nagromadzania radiocezu i innych pierwiastków promieniotwórczych przez grzyby w owocnikach jest specyficzna dla gatunku a rozmiar skażenia zależy także od miejsca (rodzaju podłoża glebowego i skali opadu promieniotwórczego), tempa i kierunku rozpadu promieniotwórczego pierwiastków, tempa migracji w głąb profilu glebowego (wmywania) i procesu biogeochemicznej cyrkulacji pierwiastków w środowisku leśnym (Falandysz and Borovička 2013). Celem badań było uzyskanie informacji o poziomie aktywności promieniotwórczej pochodzącej głównie od $^{134/137}\text{Cs}$ i ^{40}K w owocnikach maślaka sitarza (*Suillus bovinus*), pozyskanych z różnych miejsc w Polsce w latach 1993-2013. Równolegle z pomiarem aktywności promieniotwórczej radiocezu i radiopotasu oznaczono także aktywność ^{226}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb z szeregu promieniotwórczego uranoworadowego. Owocniki maślaka sitarza pozyskano do badań głównie na terenie części północnej kraju. Owocniki najczęściej rozdzielano na kapelusze i trzony, suszono i ucierano na proszek w moździerz porcelanowym. Analizowano próbkę zbiorczą grzybów reprezentatywną dla danego stanowiska. Na jedną próbkę zbiorczą składało się od kilkunastu do kilkudziesięciu owocników – osobno kapeluszy i trzonów. Aktywność promieniotwórczą nuklidów

oznaczono metodą spektrometrii gamma z zastosowaniem detektora półprzewodnikowego HPGe o wydajności 18% i zdolności rozdzielczej 1.9 keV przy energii 1332 keV wraz z analizatorem. Analizę widm rejestrowanych w 8000 kanałów prowadzono z zastosowaniem oprogramowania Genie – 2000. Wszystkie aktywności przeliczono na datę pozyskania materiału grzybowego z uwzględnieniem rozpadu promieniotwórczego. Otrzymane wyniki przedstawiono w Bq w przeliczeniu na kg masy bezwzględnie suchych owocników (105°C).

Kapelusze i trzony zawierały znacznie więcej ^{137}Cs niż naturalnego radioizotopu potasu (^{40}K), ^{134}Cs nie wykryto, a aktywności od ^{226}Ra , ^{210}Bi i ^{214}Pb były małe albo poniżej granicy oznaczalności zastosowanej metodyki analitycznej.

Nuclides ^{137}Cs and ^{40}K in fruit bodies of Bovine Bolete

Tamara Zalewska¹, Gabriela Jurkiewicz², Anna Śliwińska¹, Jerzy Falandysz²

¹Institute of Meteorology and Water Management – Marine Division in Gdynia

42 Waszyngtona St., PL-81-342 Gdynia

²Faculty of Chemistry, University of Gdańsk

63 Wita Stwosza St., PL-80-308 Gdańsk

Three decades after the nuclear disaster in Chernobyl, in 1986, the radioactive contamination of fruit bodies of wild-grown mushrooms from Poland and other European countries with ^{137}Cs and some other long-lived radionuclides continues (Rühm et al. 1997; Strandberg 2004; Mielinski et al. 2010). The amounts of radionuclides accumulated in fruit bodies by mushrooms is highly species-specific but also dependent the severity of radioactive fallout at any given location, the rates and pathways of radionuclides decay; the velocity of their migration down into soil horizon as well as the biogeochemical cycling in the forest environment (Falandysz and Borovička 2013).

The aim of this study was to examine the activities from ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{40}K , ^{236}Ra , ^{210}Bi and ^{214}Pb and to understand their occurrence in fruit bodies of mushroom, Bovine Bolete *Suillus bovinus*, collected from several places across Poland between 1993 and 2013.

Mushrooms after clean-up from plant and soil debris were air-dried for several days. Further, each specimen was separated into two parts – the cap and stipe – and dried at 65 °C to constant weight. Dried mushrooms were pulverized in an agate mortar and kept in brand new sealed polyethylene bags under dry conditions. Radioactivity from ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{40}K , ^{236}Ra , ^{210}Bi and ^{214}Pb were determined using gamma spectrometer with coaxial HPGe detector with a relative efficiency of 18% and a resolution of 1.9 keV at 1.332 MeV (with associated electronics). All results were recalculated for date of mushrooms collection and expressed in absolute dry weight (material dehydrated at 105°C).

The presence of ^{137}Cs was observed in the caps and stalks of fruit bodies of

all consignments of Bovine Boletus in this study independent of the place and year of specimen collection. In the case of ^{134}Cs no activity from this nuclide could be counted because it had decayed in mushrooms collected in 1990s and early 2000s (analyses were done in 2013) or its absence in the fruit bodies could be due to the short half-life ($t_{1/2} = 2.06$ years) of nuclide considering the time lag after the catastrophe in Chernobyl (1986-2014). The contents of natural radionuclide ^{40}K were low and variable in caps and were usually lower than that of ^{137}Cs . Stalks of Bovine Boletus were also low in ^{40}K . The activities from ^{236}Ra , ^{210}Bi and ^{214}Pb were very low or below the limit of detection.

Falandysz J. & Borovička J. 2013. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms – health benefits and risks. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97: 477-501.

Mietelski J.W., Dubchak S., Błażej S., Anielska T. & Turnau K. 2010. ^{137}Cs and ^{40}K in fruiting bodies of different fungal species collected in a single forest in southern Poland. *Journal of Environmental Radioactivity*, 101: 706-711.

Rühm W., Kammerer L., Hiersche L. & Wirth E. 1997. The $^{137}\text{Cs}/^{134}\text{Cs}$ ratio in fungi as indicator of the major mycelium location in forest soil. *Journal of Environmental Radioactivity*, 35: 129-148.

Strandberg M. 2004. Long-term trends in the uptake of radiocesium in *Rozites caperatus*. *Science of the Total Environment*, 327: 315-321.

Mikrobiologiczna degradacja karbazolu

Katarzyna Zawadzka, Natalia Wrońska, Przemysław Bernat,

Aleksandra Felczak, Katarzyna Lisowska

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Uniwersytet Łódzki
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Karbazol jest trójpierścieniowym N-heterocyklicznym związkiem aromatycznym, który stanowi poważne zagrożenie dla środowiska naturalnego. Zanieczyszczenie wód, powietrza oraz gleby karbazolem następuje głównie w wyniku wydobywania i przetwórstwa węgla oraz ropy naftowej. Ponadto karbazol jest używany do produkcji barwników, kosmetyków, leków i insektycydów. Związek ten jest niebezpieczny ze względu na wysoką toksyczność wobec organizmów wodnych oraz działanie embriotoksyczne i genotoksyczne. Charakteryzuje się ponadto wysoką stabilnością termiczną i fotochemiczną, dlatego wielu badaczy podejmuje próby mikrobiologicznej degradacji wspomnianego ksenobiotyku. Liczne gatunki bakterii wykazują zdolność degradacji karbazolu. Degradacja karbazolu przez mikroskopowe grzyby strzępkowe jest procesem słabo poznanym. Dane literaturowe wskazują, że szczep *Aspergillus flavus* dokonuje hydroksylacji karbazolu. Proces hydroksylacji cząsteczki karbazolu poprzedza rozszczepienie pierścienia aromatycznego podczas bakteryjnej degradacji wspomnianego ksenobiotyku. Hydroksylacja ma na celu przekształcenie pierścienia aromatycznych do struktury katecholu lub kwasu protokatechowego. W wyniku dalszego orto- lub meta-rozszczepienia pierścienia powstaje dwukarboksylowy kwas *cis*, *cis*-mukonowy lub semialdehyd kwasu 2-hydroksymukonowego. Powstałe produkty rozszczepienia pierścienia

aromatycznego, przez szereg kolejnych przemian pośrednich, ulegają dalszym przekształceniom i wchodzą do szlaków metabolizmu pośredniego drobnoustrojów. Celem niniejszej pracy była ocena zdolności eliminacji karbazolu przez 9 szczepów mikroskopowych grzybów strzępkowych. Zdolność eliminacji karbazolu przez wybrane szczepy grzybów strzępkowych oceniono przy użyciu technik chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem masowym (GC/MS). Wykazano, że trzy spośród badanych szczepów grzybów strzępkowych są zdolne do eliminacji karbazolu ze środowiska wzrostu.

Microbial degradation of carbazole

Katarzyna Zawadzka, Natalia Wrońska, Przemysław Bernat, Aleksandra

Felczak, Katarzyna Lisowska

Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology
and Environmental Protection, University of Łódź

12/16 Banacha St., PL-90-237 Łódź

Carbazole is a tricyclic N-heterocyclic aromatic compound which poses a serious threat of the environment. Pollution of water, air and soil by carbazole is mainly a result of mining and processing of coal and crude oil. Furthermore, carbazole is used for the manufacture of dyes, cosmetics, pharmaceuticals and insecticides. This compound is dangerous due to its high toxicity to aquatic organisms, embryotoxicity and genotoxicity. It is characterized by high thermal and photochemical stability therefore, many researchers have made attempts of its microbial degradation. Several species of bacteria have the ability to completely eliminate and degrade carbazole. Degradation of carbazole by microscopic filamentous fungi is still poorly understood. Literature data indicate that the strain *Aspergillus flavus* performs hydroxylation of carbazole. The process precedes the cleavage of the aromatic ring during the bacterial degradation of carbazole. The aim of hydroxylation is transform the structure of the aromatic ring to catechol or procatechol acid. As a result of ortho- or meta-cleavage of the ring cis, cis-muconic acid or 2- hydroksymuconic semialdehyde are formed. The resulting products of the aromatic ring cleavage by a series of consecutive transformations intermediates are further processed and enter the pathways of intermediary metabolism of microorganisms. The aim of this study was to evaluate the ability of the carbazole elimination by 9 strains of microscopic filamentous fungi. Carbazole elimination capacity of the selected strains of filamentous fungi was assessed using the techniques of gas chromatography (GC/MS). It has been shown that three of the tested strains of filamentous fungi are able to eliminate carbazole from the growth medium.

**Wpływ inwazji *Reynoutria japonica*, *Rudbeckia laciniata*
oraz *Solidago gigantea* na grzyby arbuskularne**

Szymon Zubek^{1*}, Marta L. Majewska¹, Janusz Błaszczowski²,
Anna M. Stefanowicz³, Marcin Nobis¹

¹Instytut Botaniki, Uniwersytet Jagielloński

ul. Kopernika 27, 31-501 Kraków; *szymon.zubek@uj.edu.pl

²Katedra Ekologii, Ochrony i Kształtowania Środowiska, Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin

³Instytut Botaniki im. Władysława Szafera, Polska Akademia Nauk
ul. Lubicz 46, 31-512 Kraków

Inwazje obcych gatunków roślin stanowią obecnie jedno z najpoważniejszych zagrożeń dla różnorodności biologicznej. Oddziaływanie roślin inwazyjnych na mikroorganizmy glebowe, w tym symbiotyczne grzyby arbuskularne (*Glomeromycota*), jest jednak słabo poznane. Celem badań było określenie wpływu trzech inwazyjnych gatunków roślin, dwóch mykoryzowych (*Rudbeckia laciniata*, *Solidago gigantea*) i jednego nietworzącego mykoryzy arbuskularnej (*Reynoutria* [*Fallopia*] *japonica*), na grzyby arbuskularne w dwóch typach siedlisk (doliny rzek, odłogi). Zebrano próby gleby i korzenie roślin inwazyjnych, rosnących w zwartych skupieniach (> 90% pokrycia) oraz gatunki rodzime, znajdujące się w pobliżu. Oceniono stopień kolonizacji korzeni przez grzyby arbuskularne i liczbę ich zarodników w glebie. W eksperymencie laboratoryjnym wykorzystano dwa gatunki roślin modelowych, *Plantago lanceolata* i *Trifolium repens*, które zostały posadzone w zebranej glebie w celu zbadania potencjału kolonizacyjnego grzybów arbuskularnych oraz skutków inwazji na vitalność roślin rodzimych.

Stopień kolonizacji korzeni *R. laciniata* oraz *S. gigantea* był wyższy niż całkowita kolonizacja rodzimych gatunków roślin. Liczba zarodników grzybów arbuskularnych w glebie spod *R. japonica* była niższa w porównaniu do gleby spod roślin rodzimych, natomiast nie stwierdzono istotnych różnic w przypadku mykoryzowych roślin inwazyjnych. Jednak zarówno stopień kolonizacji korzeni *P. lanceolata* i *T. repens*, rosnących w glebach pobranych spod *R. japonica*, jak i tych spod *R. laciniata* i *S. gigantea*, nie różnił się istotnie od roślin uprawianych na glebach spod roślin rodzimych. Nie stwierdzono również różnic w biomasie, zawartości azotu i fosforu, a także w parametrach fotosyntezy *P. lanceolata* i *T. repens*. Badane inwazyjne gatunki roślin nie miały istotnego negatywnego wpływu na dostępność propagul grzybów arbuskularnych. Występowanie tych mikroorganizmów w glebach spod *R. japonica* może wynikać z obecności towarzyszących mykoryzowych roślin rodzimych lub rozprzestrzeniania się propagul grzybów z wiatrem i/lub wodą. W kolejnym etapie badań oceniony zostanie wpływ roślin inwazyjnych na skład gatunkowy grzybów arbuskularnych.

Badania sfinansowano ze środków Narodowego Centrum Nauki, w ramach projektu nr DEC-2011/03/B/NZ8/00008.

The influence of *Reynoutria japonica*, *Rudbeckia laciniata* and *Solidago gigantea* invasions on arbuscular mycorrhizal fungi

Szymon Zubek^{1*}, Marta L. Majewska¹, Janusz Błaszowski²,
Anna M. Stefanowicz³, Marcin Nobis¹

¹Institute of Botany, Jagiellonian University

27 Kopernika St., PL-31-501 Kraków; *szymon.zubek@uj.edu.pl

²Department of Ecology and Protection of Environment

West Pomeranian University of Technology

17 Słowackiego St., PL-71-434 Szczecin

³W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences

46 Lubicz St., PL-31-512 Kraków

Symbiotic associations between plants and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF; Glomeromycota) are common in terrestrial ecosystems. The presence of AMF can be crucial to the maintenance of soil sustainability and the performance of plants. The spread of introduced plant species affects soil microorganisms, including AMF. To properly manage invasions, the effects of alien plants on AMF need to be characterized. The aim of our research was thus to study the impact of two mycorrhizal (*Rudbeckia laciniata*, *Solidago gigantea*) and one AMF non-host [*Reynoutria (Fallopia) japonica*] invasive plants on AMF in two habitats (river valleys, fallows). Soil and root samples of the invaders, growing in the nearly monoculture stands (>90% cover), and native plants located in the vicinity were collected. The degree of AMF root colonization and the number of AMF spores were assessed. In a laboratory experiment, two model plant species, *Plantago lanceolata* and *Trifolium repens*, were planted in the soils to study the AMF colonization potential as well as the effects of invasions on native plant performance.

The AMF colonization rates of *R. laciniata* and *S. gigantea* were higher than the total colonization of the native plants. The number of AMF spores in *R. japonica* soils was lower in comparison to native communities, whereas no significant differences were found in the case of mycorrhizal invaders. Nevertheless, neither the root colonization rates of *P. lanceolata* and *T. repens* grown in the soils collected from under *R. japonica* nor these of *R. laciniata* and *S. gigantea* differed significantly from the plants grown in the soils from native communities. The biomass, the content of N and P as well as photosynthetic performance of *P. lanceolata* and *T. repens* were also not affected. The invasive plant species under study had no significant negative effect on AMF abundance. The presence of AMF in the soils of AMF non-host *R. japonica* could be due to the accompanying mycorrhizal plants or the spread of fungal propagules by wind and/or water. As the next step of our research, the impact of the invasive plants on AMF species composition will be investigated.

The research received financial support from the Polish National Science Centre, under project DEC-2011/03/B/NZ8/00008.

Muchomor sromotnikowy *Amanita phalloides* jako przyczyna ciężkich i śmiertelnych zatruc pokarmowych

Przemysław Jaksa, Izabela Kałucka*

Katedra Algologii i Mykologii, Uniwersytet Łódzki

*ikalucka@biol.uni.lodz.pl

Zatrucia wywołane spożyciem różnych gatunków grzybów stanowią poważny problem w wielu krajach świata (Lima 2012). Również w Polsce mają one miejsce co roku, nie wyłączając przypadków śmiertelnych. Do najgroźniejszych dla organizmu ludzkiego gatunków grzybów należą muchomory *Amanita phalloides*, *A. verna* i *A. virosa*, których spożycie często kończy się śmiercią. Przyczyną śmiertelnych zatruc jest najczęściej pierwszy z nich, zwykle na skutek pomyłki z innymi gatunkami grzybów, takich jak *Agaricus* spp., *Tricholoma flavovirens*, *Russula virescens*, *Russula aeruginosa* i *Macrolepiota procera* (Burda 1998). Muchomor sromotnikowy występuje na terenie niemalże całej Polski, zwłaszcza w lasach dębowych, bukowych, mieszanych oraz niekiedy w lasach iglastych, w okresie od lipca do października (Gumińska, Wojewoda 1985).

Spożycie *Amanita phalloides* prowadzi przede wszystkim do nieodwracalnych zmian wątrobowych oraz uszkodzenia nerek i mięśnia sercowego. Czynnikiem toksycznym, który je wywołuje jest zespół substancji należących do grupy fallotoksyn i amatoksyn. Fallotoksyny powodują obrzęk komórek, nekrozę krwotoczną, zaburzenia architektury komórkowej, uszkodzenie błon komórkowych, wakuolizację i cholestazę. Skutkami morfologicznymi wywołanymi działaniem amatoksyn są ostra dystrofia i martwica hepatocytów, skaza krwotoczna, zapalne nacieki limfocytarno-leukocytarne w obrębie triad wątrobowych, obrzmienie i uszkodzenie błony mitochondriów, wakuolizacja cytoplazmy (Borowiak 1999). Mimo szybkiego wchłaniania toksyn z przewodu pokarmowego pierwsze objawy zatrucia *Amanita phalloides* (ostry nieżyt żołądkowo-jelitowy, silne odwodnienie) pojawiają się z opóźnieniem, po kilku lub kilkunastu godzinach od spożycia grzyba, co bardzo zmniejsza szanse na podjęcie szybkiego i skutecznego leczenia. Często jedynym ratunkiem jest przeszczep wątroby, a śmiertelność przy tego rodzaju zatruciu wynosi 30%.

Zatrucia grzybami, w tym zatrucia muchomorem sromotnikowym, wynikają najczęściej z niewiedzy zbierającego i braku umiejętności odróżniania gatunków jadalnych od trujących. Przy dzisiejszych możliwościach przekazywania informacji przez różnego typu media – radio, telewizję, prasę, internet, zbyt mało jest akcji uświadamiających społeczeństwo o zagrożeniach płynących z beztroskiego, ignoranckiego lub rutynowego podejścia do grzybobrania, jak również programów przestrzegających przed najczęstszymi pomyłkami gatunków jadalnych z gatunkami trującymi. Nagłaśnianie problemu i popularyzacja wiedzy o grzybach zanim sezon na grzybobranie się rozpocznie należą do najważniejszych działań profilaktycznych.

Death Cap *Amanita phalloides* – a cause of serious or fatal food poisonings

Przemysław Jaksa, Izabela Kałucka*

Katedra Algologii i Mykologii, Uniwersytet Łódzki

*ikalucka@biol.uni.lodz.pl

Mushroom poisonings are a serious problem in many countries of the world (Lima 2012). Also in Poland, they occur every year, not excluding fatalities. *Amanita phalloides*, *A. verna* and *A. virosa* are among the most dangerous species of fungi for human body, their consumption often ends in death. These fatal poisonings are most often caused by the first of aforementioned species, usually as a result of mistaking it with other fungi, like *Agaricus* spp., *Tricholoma flavovirens*, *Russula virescens*, *Russula aeruginosa* and *Macrolepiota procera* (Burda 1998). Death Cap mushroom occurs in almost entire area of Poland, especially in oak, beech, mixed and sometimes coniferous forests, in the period from July to October (Gumińska, Wojewoda 1985).

First of all, the consumption of *Amanita phalloides* leads to the irreversible liver changes, as well as kidney and heart muscle damage. The toxic agent, which is responsible for these effects, is a set of substances belonging to the phallotoxins and amatoxins group. Phallotoxins are the cause of cellular swelling, haemorrhagic necrosis, disorders of cell architecture, damage to cell membranes, vacuolation and cholestasis. Morphological effects caused by amatoxins are severe dystrophy and necrosis of hepatocytes, haemorrhagic diathesis, lymphocyte-leukocyte inflammatory intumescences within hepatic triads, swelling and damage of mitochondrial membranes and cytoplasm vacuolation (Borowiak 1999). Despite the rapid toxin absorption from the digestive tract, the first symptoms of *Amanita phalloides* poisoning (severe gastroenteritis, strong dehydration) usually occur with a delay of a few to several hours after consumption of mushroom, which drastically reduces the chance to take quick and effective treatment. Liver transplant is often the only solution, and the death rate of this poisoning is 30%.

Mushroom poisonings, including Death Cap mushroom poisoning, are mostly the result of unawareness and lack of ability to discern the edible fungal species from poisonous ones. Nowadays, when there are so many ways of transmitting information through different kinds of media - radio, television, press, internet, there are too few campaigns raising the awareness about dangers resulting from carefree, ignorant and routine approach to mushroom picking, and programmes warning about the most often mistakes and misidentifications of edible and poisonous fungal species. Publicizing the problem and promoting knowledge about mushrooms before the mushroom picking season starts, are among the most important preventive measures.

References

- Borowiak K. 1999. Lokalizacja zmian w wątrobie szczura wywołanych przez toksyny muchomora sromotnikowego. Localization of changes in rat's liver induced by toxins from *Amanita phalloides*. Annales Academiae Medicae

- Stetinensis, Roczniki Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie, Supplement 48, 1-80.
- Burda P.R. 1998. Zatrucia ostre grzybami i roślinami wyższymi. Wydawnictwo naukowe PWN, Warszawa.
- Gumińska B., Wojewoda W. 1985. Grzyby i ich oznaczanie. Wyd. 3. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
- Lima A.D.L., Costa Fortes R., Garbi Novaes M.R.C., Percário S. 2012. Poisonous mushrooms: a review of the most common intoxications. *Nutrición Hospitalaria* 27 (2): 402-408.

Lichenologia w kontekście różnorodnych badań prowadzonych w Ogrodach Botanicznych Polski

Mariusz Hachulka, Jolanta Szczepańska

Katedra Algologii i Mykologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237, Łódź; e-mail:
m.hachulka@poczta.fm;

Introduction

Badania prowadzone w polskich Ogrodach Botanicznych skierowane są przede wszystkim na ochronę rzadkich i ginących organizmów z zachowaniem różnorodności biologicznej, flory i fauny. Przedmiotem badań w Ogrodach Botanicznych są gatunki rodzime i odmiany uprawne, z różnych stref klimatycznych. Ogrody Botaniczne stanowią poligon badawczy dla wielu kierunków badań. Zwykle są to wydzielone fragmenty, enklawy, flory i fauny w obrębie dużych miast, poddane dużej antropopresji. Zmiany te widoczne są również w biocie porostów tych terenów.

Materials and methods

W ramach przygotowań pracy licencjackiej, przez pierwszego autora, wykonano przegląd badań prowadzonych w ogrodach botanicznych w największych miastach Polski: Łodzi, Poznaniu, Warszawie, Krakowie i Wrocławiu. Wyniki przedstawiono w oparciu o literaturę z lat 1958-2012 oraz wstępne badania własne prowadzone na przełomie 2013 i 2014 roku. Badania wstępne prowadzono metodą marszrutową. Zakładano 21 stanowisk. Za stanowisko przyjęto pojedyncze drzewo lub grupę drzew. Na stanowisku uwzględniano podłoże.

Results and Discussion

Stan zbadania porostów na tle różnorodnych badań prowadzonych w ogrodach botanicznych jest trudny do ustalenia. W wytypowanych ogrodach miast (poza Wrocławiem) porosty opracowano w ramach badań nad biotą miast. Najczęściej jednak nie podano opisu stanowisk: nie można stwierdzić jakie gatunki porostów rosły w ogrodach botanicznych, w jakich działach i na jakich podłożach. Pełne opracowanie lichenologiczne ma jedynie ogród botaniczny we Wrocławiu. Badania wykazały bardzo duże niekorzystne zmiany np. uproszczenie składu gatunkowego, ustępowanie naturalnych składników i zastępowanie ich toksytolerancyjnymi, synantropijnymi porostami. Wstępne badania nad porostami, prowadzone przez drugiego autora,

w Łódzkim ogrodzie botanicznym, wskazują na słabsze niekorzystne przemiany lichenobioty. Niespełna pięć miesięcy badania wykazały: większe zróżnicowanie gatunkowe, udział taksonów zagrożonych i chronionych, udział porostów z najważniejszych grup ekologicznych i korzystniejszy stosunek udziału form morfologicznych. Na badanym terenie notowano porosty z czterech grup ekologicznych (łącznie 35 gatunków). Dominowały porosty epifityczne, nad epilitycznymi o plechach listkowatych, są również porosty krzaczkowate. Szczególnie zwrócono uwagę na licheniobiotę poszczególnych forofitów. Najbogatszą lichenobiota odznaczają się: *Betula* sp. i *Larix* sp. w dalszej kolejności *Quercus* sp. i *Parthenocissus* sp. W Łódzkim Ogrodzie Botanicznym zaobserwowano 5 taksonów umieszczonych na „Czerwonej liście porostów zagrożonych i wymarłych w Polsce” (Ciesliński i in. 2006). Są to: *Cetraria chlorophylla* (Willd.) Vain., *Usnea hirta* (L.) F. H. Wigg., *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Hypogymnia tubulosa* (L.) Nyl. i *Strangospora piniola* (A. Massal.) Körb.

Conclusions

Badania prowadzone w ogrodach botanicznych ujęte są w różne bloki tematyczne np. zasoby roślinne Polski, zachowanie różnorodności biologicznej.

Stan zbadania porostów w ogrodach botanicznych nie można zweryfikować na podstawie danych zawartych w literaturze nt. porostów miast. Dane te mogą stanowić jedynie pewien wskaźnik kierunku zmian i spodziewanych wyników badań lichenologicznych w ogrodach botanicznych.

Uzyskane wyniki i porównanie ich z literaturą lichenologiczną wskazują na konieczność przeprowadzenia pełnych studiów lichenologicznych ogrodów botanicznych w Polsce.

Lichenology in the context of the different studies carried out in Polish botanical gardens

Mariusz Hachułka, Jolanta Szczepańska

Department of Algology and Mycology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź, Banacha 12/16, PL-90-237 Łódź; e-mail: m.hachulka@poczta.fm

Introduction

The research conducted in Polish botanical gardens are mostly related to protection of rare and endangered organisms with conservation of biodiversity, flora and fauna. The subjects of research in botanical gardens are native species and cultivars from different climatic zones. Botanical gardens offer a research ground for many research directions. These are usually isolated fragments, enclaves of flora and fauna within big cities exposed to a large anthropoppression. These changes are also noticeable in the biota of the lichens on these areas.

Materials and methods

As part of the preparation of bachelor's thesis by second author, an overview of research conducted in the botanical gardens of the biggest Polish cities: Łódź, Poznań, Warsaw, Cracow and Wrocław. The results were presented on the basis of the literature from 1958 to 2012 and preliminary

own research conducted in 2013 – 2014. The preliminary research was conducted using the route method. 21 localities were established. A single tree or a group of trees have been accepted as a locality. On each locality the substratum has been taken into consideration.

Results and Discussion

The state of knowledge of the lichens against different studies carried out in the botanical gardens is difficult to determine. In the selected gardens of the cities (except Wrocław) the lichens were elaborated as part of research on the biota of the cities. Most often, however, the description of the localities has not been given: it cannot be stated which species of lichens grown in the botanical gardens, as well as in which sections and on which substrata they grow. Only a Botanical Garden in Wrocław has a complete lichenological elaboration. The research has showed very large adverse changes e.g.: the reduction of the species composition, retreating of natural components and replacing them by toxy-tolerant, synanthropic lichens. The preliminary research on the lichens carried out by the second author in the Botanical Garden in Łódź, indicates lesser adverse changes of the lichens biota. Nearly five-month research has showed: larger diversity of the species, the participation of threatened and protected taxa, the participation of the lichens from the most important ecological groups and more favorable relation of participation of morphological forms. In the study area the lichens of four ecological groups have been noted (35 species all together). The epiphytic lichens have been predominated over epilithic lichens with the foliose thalli, fruticose lichens have also been present. Special attention has been paid to the lichens biota of each phorophyte. *Betula* sp. and *Larix* sp have been characterized by the richest biota of lichens, the following are *Quercus* sp. and *Parthenocissus* sp. In the Botanical Garden in Łódź 5 taxa placed in 'Red List of the lichens in Poland' (Ciesliński i in. 2006) have been observed. These are: *Cetraria chlorophylla* (Willd.) Vain., *Usnea hirta* (L.) F. H. Wigg., *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Hypogymnia tubulosa* (L.) nyl. and *Strangospora piniola* (A. Massal.) Körb.

Conclusions

The studies conducted in the botanical gardens are formulated in different thematic sections e.g. plant resources in Poland, conservation of biodiversity.

The state of knowledge of the lichens in the botanical gardens cannot be verified on the basis of the literature data about the lichens of the cities. These data can constitute only a certain indicator of the direction of changes and expected results of lichenological research in botanical gardens.

The obtained results and their comparison with lichenological literature indicates the necessity of carrying out complete lichenological studies of Polish botanical gardens.

Cieśliński S., Czyżewska K., Fabiszewski J. 2006. Red list of the lichens in Poland. In: Z. Mirek, K. Zarzycki, W. Wojewoda, Z. Szaląg (eds.), Red list of plants and fungi in Poland. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków, 71-89.