

Ogólnopolska konferencja
mykologiczna dla studentów
i doktorantów



Książka
abstraktów

Opracowanie / Edited by
Anna Biedunkiewicz, Alicja Okrańska & Monika Urbaniak

Projekt okładki / Cover design
Sebastian Piskorski & Magdalena Majda

Copyright © Polskie Towarzystwo Mykologiczne, Warszawa 2021
Al. Ujazdowskie 4, 00-478 Warszawa
www.ptmyk.pl

ISBN 978-83-940504-6-7

Abstrakty poddano jedynie opracowaniu technicznemu. Pełną odpowiedzialność za wartość merytoryczną zamieszczonych tekstów ponoszą autorzy.

Only copy-editing and formatting of abstracts have been done, therefore the authors are fully responsible for the scientific content of their abstracts.

Komitety Naukowy / Scientific committee

dr hab. Anna Biedunkiewicz (Przewodnicząca)

Katedra Mikrobiologii i Mykologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie

dr Mariusz Dyląg

Zakład Mykologii i Genetyki, Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski

prof. dr hab. Małgorzata Jędrzycka

Zakład Genetyki Patogenów i Odporności Roślin, Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk
w Poznaniu

prof. dr hab. Marlena Lembicz

Zakład Botaniki Systematycznej i Środowiskowej, Wydział Biologii, Uniwersytet Adama Mickiewicza
w Poznaniu

dr hab. Tomasz Leski, prof. ID PAN

Zakład Związków Symbiotycznych, Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku

dr hab. Sylwia Różalska, prof. UŁ

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki

Komitety organizacyjny / Organizing committee

mgr inż. Monika Urbaniak (Przewodnicząca)

Zakład Interakcji Roślina-Patogen, Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

prof. dr hab. Małgorzata Jędrzycka

Zakład Genetyki Patogenów i Odporności Roślin, Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk
w Poznaniu

dr hab. Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska, prof. IŚRL PAN

Instytut Środowiska Rolniczego i Leśnego Polskiej Akademii Nauk

dr inż. Tomasz Clapa

Katedra Biochemii i Biotechnologii, Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet
Przyrodniczy w Poznaniu

mgr Kamila Kulesza

Katedra Mikrobiologii i Mykologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie

mgr Alicja Okraśńska

Instytut Biologii Ewolucyjnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Sebastian Piskorski

Sekcja Mykologiczno-Algologiczna, Uniwersytet Łódzki

Organizatorzy / Organizers



Polskie Towarzystwo Mykologiczne

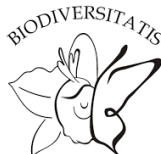


Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Patronat / Patronage



Komitet Biologii Organizmalnej Polskiej Akademii Nauk



Fundacja "Biodiversitatis"



ZESPÓŁ PARKÓW
KRAJOBRAZOWYCH
WOJEWÓDZTWA ŁÓDZKIEGO

Zespół Parków Krajobrazowych Województwa Łódzkiego

Sponsorzy / Sponsors



Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

PLAN KONFERENCJI

Piątek 23.04.2021	
12:00	otwarcie konferencji
12:15	prof. dr hab. Małgorzata Jędryczka "Fascinating world of aeromycology"
Rozpoczęcie sesji Biologia i ekologia prowadzący: dr hab. Tomasz Leski, prof. ID PAN i dr hab. Anna Biedunkiewicz	
13:00	Michał Gorczak; XVIII Kongres Europejskich Mykologów – Bioblitz 2019 przyczynek do poznania mykobioty i lichenobioty Puszczy Białowieskiej
13:15	Filip Karpowicz; What hides under litter in the Tatra Mountains? – Diversity and distribution of hypogeous fungi in Tatra National Park (Western Carpathians, Poland)
13:30	Maciej Muszyński; Gatunki cenne dla mykobioty Parku Krajobrazowego „Dolina Słupi”
13:45	Marta Kujawska; Różnorodność grzybów ektomykoryzowych w rezerwatach i drzewostanach gospodarczych – od gleby, poprzez ektomykoryzy, po owocniki
14:00	Luiza Dawidowicz; Wpływ wybranych czynników uprawowych na plon bocznika różowego <i>Pleurotus djamor</i> (Fr.) Boedjin
14:15	Edyta Mazur; Bolivia – Rich environment of biodiversity within lichens from genus <i>Lecanora</i> s.l.
14:30	Przerwa
14:45	Natalia Kartawik; Analysis of fungal communities colonizing pine dead wood in a destroyed area in the Gniezno Forest District
15:00	Mateusz Mącik; Ocena różnorodności strukturalnej i funkcjonalnej społeczności grzybów w zdegradowanej chemicznie glebie nawożonej fosforowym bionawozem
15:15	Paweł Czachura; Solanka z tężni solankowej – czy to odpowiednie siedlisko dla grzybów?
15:30	Maria Majchrowska; Nowe szczepy "czarnych drożdży" (<i>Chaetothyriales</i>) wyizolowane z grudek policzkowych mrówki śmawej (<i>Formica polyctena</i>)
15:45	Patrycja Hendel; Znaczenie i biologia rozwoju <i>Rhizoctonia solani</i>
16:00	Anna Durska; Grzyby zamieszczone na Czerwonej liście grzybów wielkoowocnikowych wśród zbiorowiska grzybów ektomykoryzowych buka pospolitego <i>Fagus sylvatica</i> na terenie nadleśnictwa Połczyn-Zdrój, w Drawskim Parku Krajobrazowym
16:10	Mario Callalli Chanchuana; Preliminary study of macromycetes in the historical sanctuary of Machupicchu, Cusco, Peru
16:25	Przerwa
Rozpoczęcie sesji Mykologia medyczna Prowadzący: dr hab. Anna Biedunkiewicz i dr Mariusz Dyląg	
16:45	Monika Huse-Kutowska; Cytotoxicity of <i>Aspergillus fumigatus</i> strains isolated from 3M Filtering Respiratory Protective Devices (FRPD) from the waste sorting industry
17:00	Julia Gwiazdowska; Daleki transport zarodników <i>Alternaria</i> w atmosferze w Europie Środkowej

17:15	Blanka Sokołowska; Rola metabolizmu lipidów w interakcjach grzybów: patogenność i symbioza
17:30	Klaudyna Spychała; Unikalna zdolność gatunków kompleksu <i>Cryptococcus neoformans</i> / <i>C. gattii</i> do tworzenia komórek olbrzymich przy jednoczesnej wrażliwości na komponenty surowicy
17:40	Wioletta Jarki; Współwystępowanie gatunków z rodzaju <i>Malassezia</i> jako czynników etiologicznych łupieżu pstrego oraz komponentów zdrowej skóry człowieka
17:50	Szymon Lis; Cell pleomorphism and enzymatic profile changes of selected <i>Candida albicans</i> strains in interaction with <i>Escherichia coli</i>

Sobota 24.04.2021	
10:00	otwarcie konferencji
Rozpoczęcie sesji Grzyby w interakcjach Prowadzący: prof. dr hab. Marlena Lembicz i dr hab. Tomasz Leski, prof. ID PAN	
10:15	Dorota Wiktorowicz; Interakcje grzybów i fok szarych <i>Halichoerus grypus</i> (Fabricius, 1791)
10:30	Igor Siedlecki; Hidden diversity - mycobiota of <i>Formica polyctena</i> ants' infrabuccal pellets
10:45	Michał Kochanowski; Is an ant mound a fortress for some fungi? Mucoromycota community of the <i>Formica polyctena</i> nest
11:00	Paweł Kudrys; Zdolności obronne grzybni wobec nicieni
11:15	Robin Wilgan; Trufle w zmieniającym się klimacie: obecne i przyszłe rozmieszczenie optymalnych nisz ekologicznych dla <i>Tuber melanosporum</i> , <i>Tuber aestivum</i> w Europie
11:30	Zofia Mencwel; Soil fungi diversity in an altitude transect of the Swiss Val Mulix valley with special focus on Mortierellomycota fungi and their symbiotic and morpho-physiological adaptations to the alpine environment
11:45	Alicja Okraśńska; Bakterie wewnątrzstrzępkowe grzybów Mucoromycota
12:00	Aleksandra Gęsiorska; Diversity of endosymbiotic bacteria in <i>Umbelopsis</i> representatives
12:15	Kamil Kisło; Is monogamy profitable? - fungal entomopathogens – bacteria interaction
12:30	Przerwa
13:00	Julia Żok; Udział miR398, miR167 i miR159 w interakcji pomiędzy pszenicą zwyczajną (<i>Triticum aestivum</i> L.) oraz grzybami z rodzajów <i>Fusarium</i> i <i>Trichoderma</i>
13:15	Artur Nowak; The effectiveness of the mycoparasitic interaction between <i>Trichoderma koningiopsis</i> TkZ3A0 and <i>Fusarium culmorum</i> Fc37 under heavy metal stress (cadmium, lead and zinc)
13:30	Lakshmi Priya Perincherry; Role of mycotoxins and cell wall-degrading enzymes in <i>Fusarium</i> pathogenesis
13:45	Katarzyna Mikołajczak; Transport wertykalny i horyzontalny grzybów endofitycznych w pszenicy (<i>Triticum aestivum</i> L.)
14:00	Dominika Malarczyk; Structural and functional analysis of fungal communities occurring in organic strawberry plantations

14:15	Krzysztof Stawrakakis; Mikrobiom roślin jako potencjalne narzędzie w ochronie gatunkowej
14:30	Aleksandra Walaszczyk; Zróżnicowane działanie przeciwgrzybowe szczepów <i>Bacillus</i> wobec szczepu <i>Fusarium sambucinum</i>
14:40	Julia Mironenka; Wpływ metabolitów <i>Trichoderma harzianum</i> na stres oksydacyjny <i>Fusarium culmorum</i>
14:50	Jean de Dieu Muhire; The use of low-temperature plasma for the eradication of grass endophytes
15:00	Wojciech Wysoczański; Transfer wertykalny endofitów grzybowych: identyfikacja w nasionach i roślinach dojrzałych maliny (<i>Rubus idaeus</i> L.)
15:10	Przerwa
Rozpoczęcie sesji Grzyby patogeniczne Prowadzący: prof. dr hab. Małgorzata Jędrzycka i dr hab. Sylwia Różalska, prof. UŁ	
15:25	Beniamin Abramczyk; <i>Gibellula pulchra</i> i <i>Gibellula leiopus</i> - ekotypy, czy gatunki
15:40	Adriana Twardawska; Badanie odporności genotypów pszenżyta ozimego ($\times$ <i>Triticosecale</i> Wittmack) na porażenie przez <i>Fusarium culmorum</i> W.G. Smith
15:55	Ewelina Sobolewska; Kiedy substancje czynne do zaprawiania nasion znikają z rynku
16:10	Dominika Rymarz; Wykorzystanie plazmy niskotemperaturowej do odkażania nasion soi (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.)
16:25	Iwona Altn; Suplementy diety w formie suszu roślinnego źródłem grzybów pleśniowych?
Rozpoczęcie sesji Genetyka i genomika Prowadzący: dr Mariusz Dyląg i prof. dr hab. Małgorzata Jędrzycka	
16:35	Zuzanna Błocka; Diversity, phylogeny and species delimitation in the genus <i>Umbelopsis</i> (<i>Mucoromycota</i>)
16:50	Szymon Ławicki; Różnorodność genetyczna polskich szczepów <i>Beauveria bassiana</i>
17:05	Paulina Janik; Genetic and morphological variability of <i>Didymium nivicola</i> Meyl. – intraspecific diversity and global biogeographic patterns of nivicolous myxomycetes
17:20	Daria Derkacz; The influence of ergosterol on plasma membrane parameters and cell wall composition of <i>Candida albicans</i>

Niedziela 25.04.2021	
10:00	otwarcie konferencji
10:15	dr hab. Anna Biedunkiewicz „Poradnik młodego naukowca, czyli jak się przygotować do wystąpienia na konferencji”
Rozpoczęcie sesji Grzyby w biotechnologii Prowadzący: dr hab. Sylwia Różalska, prof. UŁ i dr hab. Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska, prof. ISRL PAN	
10:45	Sylwia Stefanek; Effect of <i>Cerrena unicolor</i> laccase on the concentration of polyphenols in red wine
11:00	Aleksandra Góralczyk-Bińkowska; Wpływ barwników azowych i metali ciężkich na profil fosfolipidowy błony komórkowej <i>Nectriella pironii</i> IM 6443
11:15	Monika Balik; Wpływ dodatku soli cynku do podłoża hodowlanego na przyrosty biomasy i akumulację cynku w kulturach mycelialnych <i>Ganoderma</i> spp.
11:30	Monika Nowak; Wpływ skojarzonego działania acetamiprydu i zarodników grzyba <i>Metarhizium brunneum</i> na larwy owada <i>Tenebrio molitor</i>
11:45	Aleksandra Lewandowska; Wpływ światła na biosyntezę bikaweryny przez izolaty <i>Fusarium temperatum</i>
12:00	Marta Nowak; Biodegradacja metyloizotiazolinonu przez <i>Phanerochaete chrysosporium</i>
12:15	Michał Pylak; Optymalizacja zarodnikowania grzybów z rodzaju <i>Trichoderma</i> z wykorzystaniem podłoży stałych i płynnych
12:30	Jan Lazur; Mycochemical analysis of <i>Agaricus bisporus</i> fruiting bodies from three flushes – bioelements and phenolic acids determination
12:45	Grzegorz Ostrowski; Różnorodność przedstawicieli rodziny <i>Mucoraceae</i> izolowanych z wołowiny sezonowanej na sucho
13:00	Aleksandra Ściegienna; Znaczenie Shiitake w przemyśle kosmetycznym
13:10	Aleksandra Tończyk; Evaluation of the antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles synthesized by <i>Trichoderma viride</i> KKP792, <i>T. citrinoviride</i> IM6325 and <i>T. koningii</i> IM0956
13:20	Wiktoria Piątek; Lytic polysaccharide monooxygenases (LPMOs) as powerful oxidative enzymes essential in processing of lignocellulosic biomass and production of cellulose nanofibers
13:30	zakończenie konferencji

Fascynujący świat aeromikologii

Małgorzata Jędrzycka

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

mjed@igr.poznan.pl

Słowa kluczowe: aerobiologia, pułapka na zarodniki, alergeny, ochrona roślin

Wieki dzielą nas od obserwacji Lukrecjusza, który w promieniu świetlnym dostrzegł drobiny znajdujące się w powietrzu. Można je było obejrzeć dopiero kiedy Antonie van Leeuwenhoek przy pomocy oszlifowanej przez siebie soczewki ustalił, że w powietrzu znajdują się drobne organizmy żywe, prawdopodobnie przenoszone z wiatrem. Z kolei Pier Antonio Micheli jako pierwszy opisał przemieszczanie się zarodników pleśni na owoce. Jednak dopiero w XIX wieku Pierre Miguel po raz pierwszy zastosował metody wolumetryczne, umożliwiające porównywanie zawartości zarodników w próbach pobranych w różnych dniach i lokalizacjach. Okazało się natenczas, że każdy metr sześcienny powietrza zawiera liczne zarodniki grzybów. Obecnie dzięki połączeniu metod aerobiologicznych i molekularnych możemy ustalić nie tylko rodzaj i gatunek, ale także podgatunek, typ kojarzeniowy, chemotyp, rasę i wiele cech warunkowanych genetycznie. Z metod aeromikologicznych korzystają zarówno lekarze-alergolodzy jak też fitopatolodzy zajmujący się epidemiologią i ochroną roślin. Większość chorób upraw rolniczych jest wywoływana przez mikroorganizmy przenoszone z prądami powietrza. Najistotniejszą rolę w tym procesie odgrywają zarodniki patogenów roślin. Metody aerobiologiczne pomagają wskazać okresy ich największego stężenia w powietrzu, co – w powiązaniu z informacjami na temat temperatury, opadów i spodziewanej wilgotności, pozwala na określenie terminu kluczowego dla ochrony roślin uprawnych przed chorobami. Z kolei wcześniejsze ustalenie składu genów awirulencji obecnych w zarodnikach grzybów chorobotwórczych względem roślin lub mutacji wywołujących odporność na pestycydy warunkuje zastosowanie skutecznych substancji aktywnych oraz dobranie odpowiednich dawek. Zarodniki wielu grzybów znajdujących się w powietrzu zawierają białka alergizujące. Dzięki klonowaniu i nadekspresji tych alergennych białek w bakteriach możliwe jest uzyskanie znacznych ilości tych białek. Po oczyszczeniu podejmowane są próby krystalizacji w celu poznania ich struktury, co umożliwi opracowanie nowych produktów do diagnostyki alergii wziewnych. W zależności od celu badawczego, współczesny aeromikolog powinien korzystać z różnych typów pułapek (np. Taubera, Hirsta, MicroBio, Chemvoll, Cyklon). Do detekcji zarodników można wykorzystać zarówno mikroskop świetlny, jak też metody serologiczne, precyzyjne ilościowe techniki molekularne np. qPCR, a także metody pośrednie np. wykorzystujące miniaturowe biosensory. Trasy przemierzane przez zarodniki można śledzić stosując Hybrydowy Model Zintegrowanej Trajektorii Lagrangianu Pojedynczych Cząstek (HYSPLIT), który jest jednym z najczęściej stosowanych modeli do obliczeń trajektorii atmosferycznych i dyspersji zarodników.

Fascinating world of aeromycology

Malgorzata Jędrzycka

Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences in Poznań
mjed@igr.poznan.pl

Key words: aerobiology, spore sampler, allergen, decision support system

Centuries separate us from the observation of Lucretius, who saw particles in the air, in the light beam. They could only be seen when Antonie van Leeuwenhoek with the help of hand-polished lenses determined that small living organisms were present in the air and they were probably carried by the wind. Pier Antonio Micheli was the first to describe the movement of mold spores onto fruit. However, it was not until the 19th century that Pierre Miguel first used volumetric methods that made it possible to compare spore content in samples taken on different days and locations. It turned out that every cubic meter of air contained numerous fungal spores. Currently, thanks to the joint use of aerobiological and molecular methods, we can determine not only the genus and species, but also the subspecies, mating type, chemotype, race and many genetically inherited traits. Aeromycological methods are used by both medical allergologists and plant pathologists dealing with epidemiology and plant protection. Most agricultural diseases are caused by microorganisms that are carried in air currents. The spores of plant pathogens play the most important role in this process. Aerobiological methods help to identify the periods of their highest concentration in the air, which – combined with information on temperature, precipitation and expected humidity, help to determine the key period for the protection of crops against diseases. In turn, the earlier knowledge on the composition of avirulence genes present in the spores of phytopathogenic fungi or mutations causing resistance to pesticides may result in the use of effective active substances and the choice of appropriate doses. The spores of many airborne fungi contain allergenic proteins. By cloning and overexpressing these allergenic proteins in bacteria, it is possible to obtain significant amounts of these proteins. After cleaning, crystallization attempts are made to understand their structure, which will enable the development of new products for the diagnosis of inhalatory allergies. The modern aeromycologist should use different types of traps (eg Tauber, Hirst, MicroBio, Chemvoll, Cyclone), depending on the aim of the experiment. For the detection of spores, both a light microscope, as well as serological methods, precise quantitative molecular methods, such as qPCR, as well as indirect detection using miniature biosensors are available. The spore movements can be tracked using the Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory Model (HYSPLIT), which is one of the most widely used models for calculating atmospheric trajectories and spore dispersion.



POLSKIE TOWARZYSTWO
MYKOLOGICZNE



Biologia i ekologia grzybów

XVIII Kongres Europejskich Mykologów – Bioblitz 2019 przyczynek do poznania mykobioty i lichenobioty Puszczy Białowieskiej

Michał Gorczak^{1,2}, Igor Siedlecki², Zuzanna Błocka¹, Maria Cullen³, Inita Daniele⁴, Howard Fox⁵, Christoffer Harder⁶, Juha Kinnunen⁷, Michał Kochanowski², Irmgard Krisai-Greilhuber⁸, Maria Majchrowska¹, Diana Meiere⁴, Martina Oberhofer⁹, Dmitry Schigel¹⁰, Beatrice Senn-Irlet¹¹, Dorota Wiktorowicz¹, Marta Wrzosek², Julia Pawłowska¹

¹Instytut Biologii Ewolucyjnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa, Polska; ²Ogród Botaniczny, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa, Polska; ³Barrow Herbarium, Ballyanne, Wexford, Ireland; ⁴Latvian Museum of Natural History, Riga, Latvia; ⁵Irish National Herbarium, National Botanic Gardens, Dublin, Ireland; ⁶Department of Biology, Microbial Ecology Group, Lund University, Sweden; ⁷Botanical Museum, University of Helsinki, Finland; ⁸Department of Botany and Biodiversity, University of Vienna, Austria; ⁹Department of Pharmacognosy, University of Vienna, Austria; ¹⁰Global Biodiversity Information Facility, Copenhagen, Denmark; ¹¹Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research, Birmensdorf, Switzerland.

michal.gorczak@uw.edu.pl

Słowa kluczowe: różnorodność grzybów; krótkoterminowe badanie różnorodności; iNaturalist

Podczas XVIII Kongresu Europejskich Mykologów odbywającego się 18-29 września 2019 w Warszawie i Białowieży zorganizowano serię terenowych wycieczek w Puszczy Białowieskiej. Poza celami turystycznymi wycieczki te były okazją do przeprowadzenia badania różnorodności grzybów, w którym wzięli udział najlepsi mykolodzy z całej Europy. Inwentaryzacja opierała się zarówno na pozyskanych z natury okazach, jak i na materiale zdjęciowym zbieranym przez uczestników przy pomocy aplikacji iNaturalist. W jej wyniku poczyniono 561 obserwacji 233 gatunków grzybów, w tym cztery gatunki nowe dla Polski i osiem gatunków nowych dla Puszczy Białowieskiej [1]. Te wyniki wskazują, że nawet na stosunkowo dobrze zbadanym obszarze, krótkie badania terenowe mogą dostarczyć wartościowych danych. W prezentacji przedyskutujemy metody i narzędzia przydatne w tego typu projektach, w przypadku krótkoterminowych wycieczek przyrodniczych oraz w nauce obywatelskiej.

1. Gorczak, M., Siedlecki, I., Błocka, Z., Cullen, M., Daniele, I., Fox, H., Harder, C., Kinnunen, J., Kochanowski, M., Krisai-Greilhuber, I., Majchrowska, M., Meiere, D., Oberhofer, M., Schigel, D., Senn-Irlet, B., Wiktorowicz, D., Wrzosek, M. & Pawłowska, J. (2020). 18th Congress of European Mycologists Bioblitz 2019–Naturalists Contribute to the Knowledge of Mycobiota and Lichenobiota of Białowieża Primeval Forest. *Acta Mycologica*, 55(2), 55211.

18th Congress of European Mycologists – Bioblitz 2019 contribution to the mycobiota and lichenobiota of Białowieża Primeval Forest

Michał Gorczak^{1,2}, Igor Siedlecki², Zuzanna Błocka¹, Maria Cullen³, Inita Daniele⁴, Howard Fox⁵, Christoffer Harder⁶, Juha Kinnunen⁷, Michał Kochanowski², Irmgard Krisai-Greilhuber⁸, Maria Majchrowska¹, Diana Meiere⁴, Martina Oberhofer⁹, Dmitry Schigel¹⁰, Beatrice Senn-Irlet¹¹, Dorota Wiktorowicz¹, Marta Wrzosek², Julia Pawłowska¹

¹Institute of Evolutionary Biology, Faculty of Biology, University of Warsaw, Warsaw, Poland; ²Botanical Garden, Faculty of Biology, University of Warsaw, Warsaw, Poland; ³Barrow Herbarium, Ballyanne, Wexford, Ireland; ⁴Latvian Museum of Natural History, Riga, Latvia; ⁵Irish National Herbarium, National Botanic Gardens, Dublin, Ireland; ⁶Department of Biology, Microbial Ecology Group, Lund University, Sweden; ⁷Botanical Museum, University of Helsinki, Finland; ⁸Department of Botany and Biodiversity, University of Vienna, Austria; ⁹Department of Pharmacognosy, University of Vienna, Austria; ¹⁰Global Biodiversity Information Facility, Copenhagen, Denmark; ¹¹Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research, Birmensdorf, Switzerland.

michal.gorczak@uw.edu.pl

Key words: fungal diversity; short-term inventory; iNaturalist

During the 18th Congress of European Mycologists, held September 18–29, 2019 in Warsaw and Białowieża, a series of field trips were organized in Białowieża Primeval Forest. Apart from tourist purposes the trips were also an opportunity for a biodiversity inventory involving the best mycologist in Europe. The inventory was based both on specimens collected onsite and photographs made by participants using iNaturalist app. As a result a total of 561 records of 233 species of fungi are reported four species new to Poland, and eight species new to Białowieża Primeval Forest among them [1]. These results show that even in a relatively well-studied location, a rapid inventory can provide new and valuable data. In the presentation we will discuss methods and tools useful in such a project as well as in other bioblitzes (rapid inventory) and in citizen science.

1. Gorczak, M., Siedlecki, I., Błocka, Z., Cullen, M., Daniele, I., Fox, H., Harder, C., Kinnunen, J., Kochanowski, M., Krisai-Greilhuber, I., Majchrowska, M., Meiere, D., Oberhofer, M., Schigel, D., Senn-Irlet, B., Wiktorowicz, D., Wrzosek, M. & Pawłowska, J. (2020). 18th Congress of European Mycologists Bioblitz 2019–Naturalists Contribute to the Knowledge of Mycobiota and Lichenobiota of Białowieża Primeval Forest. *Acta Mycologica*, 55(2), 55211.

Co Tatry kryją pod warstwą ściółki? - Różnorodność i rozmieszczenie grzybów hypogeicznych Tatrzańskiego Parku Narodowego (Karpaty Zachodnie, Polska)

Filip Karpowicz, Maciej Kozak, Piotr Mleczko

Instytut Botaniki, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński

filip.karpowicz@student.uj.edu.pl

Słowa kluczowe: grzyby hypogeiczne, grzyby gasteroidalne, różnorodność gatunkowa, Tatrzański Park Narodowy, Karpaty Zachodnie

Grzyby hypogeiczne, to szeroko rozpowszechniona, zróżnicowana filogenetycznie, grupa ekologiczna, której przedstawiciele charakteryzują się wytwarzaniem zamkniętych owocników, całkowicie lub częściowo zagłębionych w glebie. Stanowią ważny element sieci troficznych i ekosystemów, będąc partnerami ektomykoryzowymi drzew, pożywieniem drobnych ssaków i owadów oraz modulatorami właściwości fizykochemicznych gleby.

Z uwagi na skryty tryb życia, różnorodność gatunkowa grzybów w obrębie tej grupy jest w wielu miejscach Polski poznana niedostatecznie a mapy ich rozmieszczenia pełne białych plam. Szczególnie ciekawym i różnorodnym pod względem bioty grzybów hypogeicznych regionem Europy Centralnej są Karpaty Zachodnie. Z dotychczasowych badań wynika, że na obszarze Polski tereny należące do tego pasma górskiego są jednym z potencjalnych centrów różnorodności grzybów podziemnych [1, 2]. Dla obszaru Tatrzańskiego Parku Narodowego (TPN), założonego w 1954 roku i obejmującego najbardziej zróżnicowane siedliskowo i rozpoznawalne elementy Karpat Zachodnich w Polsce, nie przeprowadzono dotychczas całościowych, ukierunkowanych na grzyby podziemne badań mykologicznych.

Niniejsze wystąpienie oparte zostało na wynikach badań przeprowadzonych na terenie TPN w roku 2019 i kontynuowanych w roku 2020, stanowiących próbę zaktualizowania, poszerzenia i usystematyzowania wiedzy o różnorodności i występowaniu grzybów hypogeicznych na obszarze Parku. Prace terenowe, rozpoczęte wczesnym latem i zakończone jesienią 2019 roku, zaowocowały skontrolowaniem 1037 stanowisk i zbiorem 472 kolekcji grzybów podziemnych. Dodatkowo przeanalizowano 108 kolekcjami zielnikowych zebranych w latach 2008-2018. Identyfikacji dokonano zarówno przy użyciu metod klasycznych, jak i molekularnych.

Dotychczas przeprowadzone analizy zebranego materiału wykazały obecność na terenie TPN 43 gatunków należących do 20 rodzajów, jednak szacuje się, że w trakcie dalszych prac liczba gatunków może osiągnąć ponad 50. Najwyżej położone kolekcje odnaleziono około 1800 m n.p.m. (piętro subalpejskie), najniższe pochodzą z około 900 m n.p.m. (regiel dolny). Głównym czynnikiem determinującym występowanie poszczególnych taksonów było rozmieszczenie ich partnerów mykoryzowych. Najliczniejsze kolekcje reprezentowały rodzaje *Elaphomyces*, *Hydnotrya*, *Hymenogaster* i *Octaviania*. Oprócz gatunków częstych w Polsce, w Tatrach odnotowano również taksony rzadkie takie jak *Gautieria trabutii*, *Rhizopogon marchii* i *Rhizopogon pumilionum*, oraz takie, których występowania w Polsce wcześniej nie stwierdzono: *Melanogaster luteus* i *Rhizopogon melanogastroides* [3]. Wśród najcenniejszych grzybów znajdują się też dwa gatunki z rodzajów *Barssia* oraz *Tuber* nowe dla nauki.

1. Chachuła, P., Mleczko, P., Wierzbowska, I., & Kędzior, W. (2020). Hypogeous fungi of Pieniny National Park– new data on diversity and distribution. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica*, 27(2), 359-378.
2. Wojewoda, W., Kozak, M., Mleczko, P., & Karasiński, D. (2016). *Grzyby makroskopijne Gorców (Karpaty Zachodnie)*. Kraków: Instytut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk.
3. Mleczko, P., Kozak, M., & Karpowicz, F. (2020). New Records of Rare Hypogeous Fungi from Poland (Central Europe). *Acta Mycologica*, 55(2).

What hides under litter in the Tatra Mountains? - Diversity and distribution of hypogeous fungi in Tatra National Park (Western Carpathians, Poland)

Filip Karpowicz, Maciej Kozak, Piotr Mleczko

Institute of Botany, Faculty of Biology, Jagiellonian University

filip.karpowicz@student.uj.edu.pl

Key words: hypogeous fungi, gasteroid fungi, species diversity, Tatra National Park, Western Carpathians

Hypogeous fungi are widespread, phylogenetically diverse, ecological group of species producing closed sporocarps that develop and mature in the soil. They are important components of ecosystems and trophic chains as plant symbionts, food source for small mammals and insects, and modulators of soil physicochemical properties.

Because of specific life strategy, the knowledge of species diversity of hypogeous fungi in Poland is unsatisfactory and the picture of their distributions is full of gaps. Western Carpathians are an exceptionally interesting and important region for Central European biota of hypogeous fungi. Recent investigations show, that this mountain range can be considered a hot spot for hypogeous fungi diversity in our country [1, 2]. Yet, in the Tatra National Park (TNP), established in the year 1954, and covering the most diverse and spectacular parts of the Western Carpathians in Poland, no large-scale mycological research focused on hypogeous fungi was carried out.

This presentation is based on results of research carried out in TNP in the year 2019 and continued in 2020, that attempted at updating and broadening the knowledge of diversity and distribution of hypogeous fungi. Field works that began in early spring and ended in fall of the same year, resulted in examination of 1037 localities and gathering of 472 collections of fungi. Additionally, 108 herbarium collections dating from the period 2008-2018 were included. Identification of sporocarps was carried out with classical and molecular methods.

Currently, analysis of the gathered specimens resulted in the identification of 43 species from 20 genera, however it is estimated, that ongoing identification process will increase the number of species to over 50. The analyzed specimens were gathered at localities ranging from approx. 1800 to 900 m a.s.l. The main factor determining the distribution of species seemed to be the occurrence of their mycorrhizal partners. The most frequently encountered were fungi from the genera *Elaphomyces*, *Hydnotrya*, *Hymenogaster*, and *Octaviania*. In addition to common species, some rare fungi in Poland were found e.g. *Gautieria trabutii*, *Rhizopogon marchii*, and *Rhizopogon pumilionum*. Two identified species, *Melanogaster luteus* and *Rhizopogon melanogastroides*, were previously not reported from our country [3]. One of the most interesting collections were those belonging to genera *Balsamia* and *Tuber*, that comprise two species new for science.

1. Chachuła, P., Mleczko, P., Wierzbowska, I., & Kędzior, W. (2020). Hypogeous fungi of Pieniny National Park– new data on diversity and distribution. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica*, 27(2), 359-378.
2. Wojewoda, W., Kozak, M., Mleczko, P., & Karasiński, D. (2016). *Grzyby makroskopijne Gorców (Karpaty Zachodnie)*. Kraków: Instytut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk.
3. Mleczko, P., Kozak, M., & Karpowicz, F. (2020). New Records of Rare Hypogeous Fungi from Poland (Central Europe). *Acta Mycologica*, 55(2).

Gatunki cenne dla mykobioty Parku Krajobrazowego „Dolina Słupi”

Maciej Muszyński¹, Sebastian Piskorski^{1,2}, Małgorzata Ruskiewicz-Michalska^{2,3}

¹Sekcja Mykologiczno-Algologiczna Studenckiego Koła Naukowego Biologów, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

²Katedra Algologii i Mykologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

³Instytut Środowiska Rolniczego i Leśnego, Polska Akademia Nauk

muszynski.maciej.ozw@gmail.com

Słowa kluczowe: macromycetes, gatunki chronione, gatunki zagrożone.

Parki krajobrazowe, tworzone w celu zachowania obszarów najcenniejszych pod względem przyrodniczym, krajobrazowym i kulturowym [1], mogą stanowić również cenną ostoję dla grzybów. Park Krajobrazowy „Dolina Słupi” (PKDS) utworzony w 1981 roku jest zlokalizowany w obrębie województwa pomorskiego. Powierzchnia Parku wraz z otuliną wynosi 83 170 ha i obejmuje obszar środkowego i dolnego biegu rzeki Słupi oraz jej zlewni. 72% obszaru PKDS zajmują lasy. Najczęściej występującymi zbiorowiskami leśnymi są bory sosnowe (świeże i mieszane), a spośród lasów liściastych – buczyny niżowe (kwaśne i żyzne) oraz grądy i łęgi. W sierpniu i wrześniu 2020 r. przeprowadzono rozpoznanie różnorodności gatunkowej grzybów wielkoowocnikowych w ekosystemach lądowych PKDS oraz podjęto próbę określenia zagrożeń dla stanowisk tzw. gatunków cennych przyrodniczo (zagrożonych wyginięciem, chronionych, rzadkich w regionie i w Polsce, ale nie ujętych na czerwonej liście gatunków zagrożonych). Inwentaryzacja grzybów wielkoowocnikowych obejmowała zbiorowiska leśne i torfowiskowe i prowadzona była metodą marszrutową oraz na stałych powierzchniach obserwacyjnych (45). Zestawiono też dostępne dane literaturowe.

Zaobserwowano i zidentyfikowano 228 taksonów (gatunków i podgatunków) grzybów wielkoowocnikowych. Wśród nich odnotowano 30 gatunków szczególnie cennych. Cztery z nich, związane z drewnem, podlegają ochronie częściowej: jamkówka kurczliwa (*Antrodia ramentacea*), ozorek dębowy (*Fistulina hepatica*), soplówka bukowa (*Hericium coralloides*) i błyskoporek podkorowy (*Inonotus obliquus*). 28 gatunków cennych przyrodniczo należy do zagrożonych zgodnie z *Czerwoną listą grzybów wielkoowocnikowych zagrożonych w Polsce* [2]. Dwa gatunki stwierdzone w PKDS mają przypisaną kategorię E (wymierające): drobnoporek łzawiący (*Calciopostia guttulata*) i jamkówka kurczliwa (*Antrodia ramentacea*). Dwa inne gatunki rzadkie w Polsce są ściśle związane z określonym siedliskiem lub żywicielem: *Adelphella babingtonii* i *Vararia ochroleuca*. Pierwszy z nich do rozwoju wymaga odpowiedniego substratu – allochtonicznego, zanurzonego w wodzie drewna, a drugi, martwego drewna liściastego.

Mimo stwierdzenia wielu interesujących gatunków, dla poznania bioróżnorodności grzybów i określenia czynników zagrażających im w PKDS konieczne są dalsze badania.

1. Ustawa z dnia 16 kwietnia 2004 roku o ochronie przyrody (Dz. U. z 2020 r. poz. 55 z późn. zm.)
2. Wojewoda W., Ławrynowicz M. 2006. Red list of the macrofungi in Poland. In: Mirek Z., Zarzycki K., Wojewoda W., SzelaŹ Z. (Eds.). Red list of plants and fungi in Poland. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków: 54-70.

Species valuable for mycobiota of the "Dolina Słupi" Landscape Park

Maciej Muszyński¹, Sebastian Piskorski^{1,2}, Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska^{2,3}

¹*Myco-Algological Section of the Students Scientific Society, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź*

²*Department of Algology and Mycology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź*

³*Institute for Agricultural and Forest Environment, Polish Academy of Sciences*

muszynski.maciej.ozw@gmail.com

Key words: macromycetes, protected species, endangered species

Landscape parks, aimed to preserve the most valuable areas in terms of nature, landscape, and culture [1], can also provide a valuable refuge for fungi. The "Dolina Słupi" Landscape Park (DSLPP) established in 1981, is the only valley-type landscape park within the Pomeranian Province. The area of the Park with its buffer zone is 83,170 ha and covers the middle and lower courses of the river Słupia and its catchment area. Forests cover 72% of the DSLPP area, and to the predominating forest communities belong Scots pine forests (fresh and mixed), and among deciduous forests – lowland beech forests (acid and rich) and oak-hornbeam forests. In August and September 2020, a short-time inventory of species diversity of macrofungi was carried out an attempt to assess the threats to the stands of the most valuable fungal species (red-listed, protected by law, and rare in the region/Poland, but not red-listed) was also undertaken. The route method, and the permanent observation plots (45) were used. Available literature data were also summarized.

A total of 228 taxa (species and subspecies) of macrofungi were found and identified. Among them, 30 species of particular value were recorded, e.g. four species of wood-inhabiting fungi protected by law: *Antrodia ramentacea*, *Fistulina hepatica*, *Hericium coralloides*, and *Inonotus obliquus*. Twenty eight species belong to the endangered fungi according to the *Red List of macrofungi in Poland* [2]. Two species found in the DSLPP are considered extinct in Poland (category E): *Calcipostia guttulata* and *Antrodia ramentacea*. Two other species that are rare in Poland are closely associated with a specific habitat or host: *Adelphella babingtonii* and *Vararia ochroleuca*. First of them requires a specific substrate – allochthonous wood submerged in water, and the second requires a dead hardwood.

Despite the many interesting species found in DSLPP, further research is needed to better explore fungal biodiversity and identify the threat factors.

1. Ustawa z dnia 16 kwietnia 2004 roku o ochronie przyrody (Dz. U. z 2020 r. poz. 55 z późn. zm.)
2. Wojewoda W., Ławrynowicz M. 2006. Red list of the macrofungi in Poland. In: Mirek Z., Zarzycki K., Wojewoda W., Szelański Z. (Eds.). Red list of plants and fungi in Poland. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków: 54-70.

Różnorodność grzybów ektomykoryzowych w rezerwach i drzewostanach gospodarczych – od gleby, poprzez ektomykoryzy, po owocniki

Marta Brygida Kujawska¹, Maria Rudawska¹, Małgorzata Stasińska², Leszek Karliński¹, Robin Wilgan¹, Tomasz Leski¹

¹Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Parkowa 5, 62-035 Kórnik

²Uniwersytet Szczeciński – Instytut Nauk o Morzu i Środowisku, ul. A. Mickiewicza 16, 70-383 Szczecin

mkowalska@man.poznan.pl

Słowa kluczowe: owocniki, ektomykoryzy, analizy metagenomiczne, rezerваты, lasy gospodarcze

Celem badań było poznanie i określenie aktualnego stanu zróżnicowania zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych (GEM) w rezerwach i drzewostanach gospodarczych reprezentujących kontynentalny bór mieszany. Nasze główne hipotezy badawcze zakładały, że zbiorowiska GEM występujące w porównywanych drzewostanach będą podobne pod względem bogactwa gatunkowego, choć mogą być istotnie zróżnicowane pod względem jakościowym.

Wykorzystane metody badawcze oparte były o klasyczną analizę zbiorowisk GEM polegającą na obserwacji dwóch najważniejszych form życiowych GEM, tj. owocników oraz ektomykoryz, jak i o analizę metagenomiczną prób glebowych (Illumina MiSeq). Badania realizowano w latach 2015–2018. Obserwacje owocników i zbiór prób korzeniowo-glebowych wykonane były na powierzchniach badawczych założonych na terenach trzech rezerwatów „Bażantarnia” (N-ctwo Przytok), „Olbina” (N-ctwo Kalisz) i „Czaplowizna” (N-ctwo Łochów), w których ochrona trwa od 40 do 60 lat, oraz w odpowiadających im jak najpełniej pod względem siedliskowym lasach gospodarczych.

Połączenie trzech podejść metodycznych pozwoliło na identyfikację łącznie 171 taksonów GEM, w tym 139 w rezerwach i 145 w drzewostanach gospodarczych. Na podstawie analiz metagenomicznych próbek glebowych zidentyfikowano 96 taksonów GEM, zaś w oparciu o obserwację owocników i molekularne analizy ektomykoryz odpowiednio 92 i 83 taksony GEM. Ponad 66% zidentyfikowanych GEM stanowiły gatunki wspólne dla rezerwatów i drzewostanów gospodarczych. Wśród gatunków odnotowanych wyłącznie w drzewostanach gospodarczych (32 taksony) lub rezerwach (26 taksonów) przeważały gatunki rzadko odnotowywane, zwykle stwierdzone na pojedynczych poletkach, a na ich obecność bardziej istotny wpływ miało miejsce (Przytok, Kalisz, Łochów) i związane z nim parametry siedliskowe. Lokalizacja stanowisk była czynnikiem, który w nieco wyższym stopniu wpływał na skład gatunkowy GEM, niż typ drzewostanu.

Uzyskane wyniki wskazują, że zarówno rezerваты jak i drzewostany gospodarcze mogą być ostoją różnorodności gatunkowej GEM, a tempo zmian zachodzących w zbiorowiskach GEM w rezerwach od czasu zaprzestania działalności gospodarki leśnej jest raczej powolne. Wydaje się koniecznym, aby badania były powtórzone na tych samych stanowiskach za kolejne kilkadziesiąt lat, szczególnie w badanych rezerwach. Pozwoliło by to uchwycić dalsze zmiany w strukturze zbiorowisk grzybów związane z wieloletnim zaprzestaniem działań gospodarki leśnej, gdyż jak pokazują badania [1] w przypadku GEM, potrzeba średnio 90 lat do przywrócenia pierwotnego stanu różnorodności gatunkowej tej grupy grzybów.

1. Spake, R., Ezard, T. H. G., Martin, P. A., Newton, A. C., & Doncaster, C. P. (2015). A meta-analysis of functional group responses to forest recovery outside of the tropics. *Conservation Biology*, 29(6), 1695–1703. <https://doi.org/10.1111/cobi.12548>

Badania zrealizowane w ramach realizacji projektu badawczego Narodowego Centrum Nauki nr 2014/13/B/NZ9/01992.

Ectomycorrhizal fungal diversity in forest reserves and managed forests - from the bulk soil, throughout ectomycorrhizas, to sporocarps

Marta Brygida Kujawska¹, Maria Rudawska¹, Małgorzata Stasińska², Leszek Karliński¹, Robin Wilgan¹, Tomasz Leski¹

¹*Institute of Dendrology, Polish Academy of Sciences, Parkowa 5, 62-035 Kórnik, Poland*

²*University of Szczecin, Institute of Marine and Environmental Sciences, Adama Mickiewicza 18, 70-383 Szczecin, Poland*

mkowalska@man.poznan.pl

Key words: sporocarps, ectomycorrhizas, high throughput Illumina MiSeq sequencing, protected forests, managed forest stands

Our objective was focused on the study of the ectomycorrhizal (ECM) fungal diversity in three different sites (Forest Districts Przytok, Kalisz, Łochów) representing European mixed coniferous forests. Over four years, ECM fungi have been evaluated in three pairs of forest reserves (under protection for 40–60 years) and adjacent managed forests using a combination of classical, molecular, and metagenomic identification methods (sporocarp surveys, molecular identification of ectomycorrhizas and high-throughput Illumina Miseq sequencing).

We hypothesized that the ECM fungal species richness would be similar both in forest reserves and managed forests, but the species composition and abundance of ECM fungi would differ between protected and managed forest stands.

The combination of three research methods allowed the identification of 171 ECM fungal taxa. Among them, 66% ECM taxa were shared between both management types. High-throughput sequencing analyses, sporocarp surveys, and molecular identification of ectomycorrhizas allowed to identify 96, 92 and 83 ECM taxa, respectively. Therefore, to obtain a complete understanding of the ECM fungal diversity, varied methods should be applied. Forest reserves and managed forests were similar in terms of total species richness of ECM fungi (139 and 145 taxa, respectively). Each management regime provides a certain number of taxa not found in the other. A slightly higher number of exclusive ECM taxa was found in managed forests than in forest reserves (32 and 26 taxa, respectively). Among them were rarely recorded species, usually found in single plots, and their abundance was more significantly influenced by localities (Przytok, Kalisz, Łochów) and associated with them habitat parameters. Two-way analysis of similarities revealed that both site and management strategy influenced the ECM fungal species composition, with the site being a primary effect.

Our results suggest that the transformation of ECM fungal diversity after cessation of forest management is rather slow, and both forest reserves and managed forests help uphold ECM fungal diversity. It seems necessary that the research should be repeated at the same sites (especially in the studied reserves) for the next several dozen years. This would allow capturing further changes in the structure of fungal communities associated with the cessation of forest management activities, because, as shown by other studies, it takes an average of 90 years to restore the original state of ECM species diversity disturbed by forest management [1].

1. Spake, R., Ezard, T. H. G., Martin, P. A., Newton, A. C., & Doncaster, C. P. (2015). A meta-analysis of functional group responses to forest recovery outside of the tropics. *Conservation Biology*, 29(6), 1695–1703. <https://doi.org/10.1111/cobi.12548>

The study was financed by National Science Centre, Poland, under the project no. 2014/13/B/NZ9/01992.

Wpływ wybranych czynników uprawowych na plon bocznika różowego *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedjin

Luiza Dawidowicz, Marek Siwulski

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii, Katedra Warzywnictwa

loocy7@op.pl

Słowa kluczowe: uprawa grzybów, podłoża uprawowe, suplementacja, grzyby jadalne, dodatki do podłoża

Pleurotus djamor może stanowić alternatywę dla najpowszechniej uprawianych na świecie boczników ze względu na unikalną, przyciągającą wzrok konsumentów barwę (kapelusz koloru od bladoróżowego poprzez różowopomarańczowy do ciemnego różu) oraz dużą tolerancję na wysokie temperatury. Wymagania termiczne tego gatunku czynią go przydatnym do uprawy w okresie, który nie sprzyja plonowaniu większości grzybów z rodzaju *Pleurotus*. Bocznik różowy jest gatunkiem łatwym w uprawie a jego grzybnię charakteryzuje ekspansywność i szybki wzrost. Jako podłoże do uprawy tego bocznika najczęściej stosuje się lokalnie dostępne materiały odpadowe z produkcji leśnej, rolniczej i ogrodniczej. *P. djamor* szczególnie popularny jest w Azji, Ameryce Południowej i USA a jego znaczenie handlowe ciągle wzrasta [1,2]. W Polsce bocznik ten jest obecnie grzybem praktycznie nieznanym i nie uprawianym na skalę wielkotowarową.

W uprawie grzybów bardzo często używa się dodatków do podłoża w celu poprawienia jakości owocników oraz zwiększenia wydajności plonowania. Celem pracy było określenie wpływu rodzaju słomy oraz suplementacji na plon *P. djamor* oraz na zawartość suchej masy owocników.

Badania przeprowadzono na dwóch odmianach bocznika różowego, pochodzących z Kolekcji Grzybów Jadalnych i Leczniczych Katedry Warzywnictwa UPP – B62 i B123. Jako podłoże wykorzystano słomę pszeną i żytnią, do której dodano dwa rodzaje dodatków organicznych: otręby pszenne w ilości 20% masy podłoża oraz śrutę sojową w ilości 5% masy podłoża. Uprawę przeprowadzono w komorze uprawowej Katedry Warzywnictwa w standardowych warunkach dla badanego gatunku, następnie zebrano owocniki z dwóch rzutów i wykonano analizy.

Wykazano, że: rodzaj słomy i dodatku zastosowanego do podłoża miał wpływ na wielkość plonu ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. podłoża) owocników *P. djamor* – największy plon uzyskano na podłożu ze słomy pszennej z dodatkiem 20% otręb pszennych; badane odmiany bocznika różniły się wielkością plonu – plon owocników odmiany B123 był większy od plonu odmiany B62; rodzaj słomy i zastosowanego dodatku do podłoża nie miał wpływu na zawartość suchej masy (%) owocników badanych odmian *P. djamor*.

Przeprowadzone badania pozwalają poznać wpływ wybranych czynników uprawowych na plon bocznika różowego a opracowanie taniej i prostej metody jego produkcji w Polsce może przyczynić się do wprowadzenia tego gatunku do uprawy wielkotowarowej oraz urozmaicenia oferty rynkowej grzybów jadalnych w naszym kraju.

1. Siwulski M., Sobieralski K. (2004). Uprawa grzybów jadalnych i leczniczych w warunkach naturalnych. Wyd. Kurpisz, Poznań, s. 158.
2. Siwulski M., Czerwinska-Nowak A., Wong J. (2008). Wpływ wzbogacania podłoża na plonowanie i wybrane cechy owocników *Pleurotus djamor* (FR.). Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, t. 527, 289-294.

Influence of selected cultivation factors on the yield of pink oyster mushroom *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedjin

Luiza Dawidowicz, Marek Siwulski

*Poznan University of Life Sciences, Faculty of Agronomy, Horticulture and Bioengineering,
Department of Vegetable Crops*

loocy7@op.pl

Key words: mushroom cultivation, substrates for cultivation, supplementation, edible mushrooms, substrate additives

Pleurotus djamor can be an alternative to the most commonly grown oyster mushrooms in the world due to its unique, eye-catching color (a hat of color from light pink through pink-orange to dark pink) and high tolerance to high temperatures. Thermal requirements of this species make it suitable for cultivation in the period, which is not conducive to yielding of most fungi of the genus *Pleurotus*. The pink oyster mushroom is an easy-to-grow species and its mycelium is characterized by expansiveness and rapid growth. As a substrate for growing this oyster mushroom, locally available waste materials from forestry, agricultural and horticultural production are most often used. *P. djamor* is especially popular in Asia, South America, and the USA and its commercial importance is constantly increasing [1,2]. In Poland, this oyster mushroom is currently a practically unknown mushroom and not cultivated on a large scale.

In mushroom cultivation, substrate additives are often used to improve the quality of fruiting bodies and increase yielding efficiency. The aim of the study was to determine the effect of type of straw and supplementation on yield of *P. djamor* and dry matter content of fruiting bodies.

The experiment was carried out on two varieties of pink oyster mushroom from the Collection of Edible and Medicinal Mushrooms of Department of Vegetable Crops PULS – B62 and B123. Wheat and rye straw was used as the substrate, to which two types of organic additives were added: wheat bran in the amount of 20% of the mass of substrate and soybean meal in the amount of 5% of the mass of substrate. Cultivation was carried out in the cultivation chamber of Department of Vegetable Crops in standard conditions for tested species, then fruiting bodies from two flushes were harvested and analyzes were performed.

It was shown that: type of straw and type of additive applied to the substrate influenced the yield of *P. djamor* fruiting bodies ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ DM of substrate) – the highest yield was obtained on the substrate made of wheat straw with addition of 20% wheat bran; pink oyster mushroom cultivars differed in the yield size – yield of fruiting bodies of cultivar B123 was higher than that of cultivar B62; type of straw and substrate additive used had no effect on the dry matter content (%) of fruiting bodies of *P. djamor* cultivars.

The conducted experiment allows to investigate the effect of selected cultivation factors on the yield of pink oyster mushroom and the development of a cheap and simple method of its production in Poland may contribute to introducing this species to large-scale cultivation and diversifying the market offer of edible mushrooms in our country.

1. Siwulski M., Sobieralski K. (2004). Uprawa grzybów jadalnych i leczniczych w warunkach naturalnych. Wyd. Kurpisz, Poznań, s. 158.
2. Siwulski M., Czerwinska-Nowak A., Wong J. (2008). Wpływ wzbogacania podłoża na plonowanie i wybrane cechy owocników *Pleurotus djamor* (FR.). Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, t. 527, 289-294.

Boliwia – bogate środowisko bioróżnorodności porostów z rodzaju *Lecanora* s.l.

Edyta Mazur, Lucyna Śliwa

Instytut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk; Grupa Ewolucji i Interakcji Organizmalnych

e.mazur@botany.pl

Słowa kluczowe: grzyby lichenizujące, *Lecanora* s.l., morfotypy, genetyka, systematyka

Boliwia to obszar świata o nieodkrytej bioróżnorodności. Wiele ekosystemów tego kraju bogatych jest w gatunki grzybów lichenizujących. Badania prowadzone w tym kraju ujawniły do tej pory ok. 1400 gatunków porostów [2]. Sądząc po tym, iż Boliwia charakteryzuje się dużą różnorodnością tych organizmów przypuszczalna liczba gatunków tam występujących, podawana w literaturze, to około 2500 [1]. *Lecanora* s.l. jest jednym z najliczniejszych, a zarazem najmniej poznanych rodzajem porostów w tym regionie. Na świecie sam rodzaj *Lecanora* s.s. liczy ok. 550 gatunków, podczas gdy na terenie Boliwii odkryto dotychczas tylko 28 gatunków *Lecanora* s.l. [3, 4, dane niepublikowane]. W 2018 roku podjęto badania zmierzające do analizy filogenetycznej neotropikalnych gatunków z rodzaju *Lecanora* s.l. Analiza ta opiera się na obecnie przyjętej koncepcji wyznaczania gatunków, uwzględniającej cechy morfologiczne i chemiczne. Badany materiał pochodzi z różnych regionów biogeograficznych Boliwii i został zebrany w czasie wypraw lichenologicznych w latach 2004–2017. Okazy znajdują się w zielniku Instytutu Botaniki im. W. Szafera Botaniki PAN (KRAM) i Herbario Nacional de Bolivia w La Paz (LPB). Zostały zebrane przez A. Flakus, K. Wilk i P. Rodriguez de Flakus. Kolekcja liczy ponad 560 okazów i zawiera około 60 morfotypów. Badania molekularne przeprowadzono na świeżym materiale zebrany w latach 2016–2018 i przechowywanym w stanie zamrożonym (135 okazów różnych morfotypów). Cel badań to: 1) ustalenie pozycji filogenetycznej neotropikalnych gatunków *Lecanora* s.l. w filogenezie rodzaju, z włączeniem sekwencji gatunków tropikalnych dostępnych w GenBank, opartej na powszechnie stosowanych markerach molekularnych (ITS + mtSSU); 2) wskazanie pozycji filogenetycznej przedstawicieli z rodzaju *Lecanora* s.l. z Boliwii na podstawie analiz statystycznych (dedykowanych wykrywaniu i testowaniu gatunków); 3) analiza filogenetyczna fotobiontów związanych z neotropikalnymi gatunkami *Lecanora* s.l. Wstępne wyniki ujawniły około 30 taksonów nie podawanych dotychczas z Boliwii. Niektóre z nich mogą reprezentować nieopisane gatunki zarówno myko-, jak i fotobiontów.

1. Feuerer T. 2005. Checklist of lichens and lichenicolous fungi of Bolivia. Hamburg University, http://www.biologie.uni-hamburg.de/checklists/southamerica/bolivia_1.htm
2. Rodriguez Flakus P., Flakus A., Kukwa M., Etayo J., Lücking R., Isela Meneses R., Rivas Plata E., Stanton D., Truong C., Vargas R., Flakus A. 2014. Preliminary catalogue of lichens and lichenicolous fungi from Bolivia. Version 1.4 . W. Szafer Institute of Botany PAS, Krakow.
3. Śliwa L., Wilk K., Rodriguez Flakus P., Flakus A. 2012. New records of *Lecanora* for Bolivia. Mycotaxon 121: 385–392.
4. Śliwa L., Rodriguez Flakus P., Wilk K., Flakus A. 2014. New records of *Lecanora* for Bolivia. II. Journal article : Polish Botanical Journl 59 (1): 97-103

Projekt finansowany jest przez Narodowe Centrum Nauki (projekt nr. 2016/21/B/NZ8/02463) i realizowany we współpracy z F. Lutzoni Lab at Duke Uniwersytet, USA.

Bolivia – rich environment of biodiversity within lichens from genus *Lecanora* s.l.

Edyta Mazur, Lucyna Śliwa

W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences; Organismal Evolution and Interactions Group

e.mazur@botany.pl; l.sliwa@botany.pl

Key words: lichen-forming fungi, *Lecanora* s.l., morphotypes, genetics, systematics

Bolivia is an area of the world with undiscovered biodiversity. Many ecosystems of this country are unquestionably rich in lichen-forming fungi. Research in Bolivia revealed so far ca. 1400 lichen species [2] of about 2500 species predicted in various references to occur there [1]. *Lecanora* s.l. is one of the largest in number of species and the least known genus in this region. In the world, just *Lecanora* s.s. itself counts approx. 550 species. Whereas only 28 species of *Lecanora* s.l. are reported from Bolivia till present [3, 4, unpublished data]. In 2018, research was undertaken towards the phylogenetic analysis of the neotropical *Lecanora* s.l. and based on the currently accepted concept of species delimitation taking into account morphological and chemical features. The investigated material originates from various biogeographical regions of Bolivia and was collected during lichenological expeditions in 2004–2017. The specimens are available in the herbarium of the W. Szafer Institute of Botany PAS (KRAM) and Herbario Nacional de Bolivia in La Paz (LPB) and were collected by A. Flakus, K. Wilk and P. Rodriguez de Flakus. The collection counts over 560 specimens and includes about 60 morphotypes. Molecular studies were carried out on fresh material collected in the years 2016–2018 and stored frozen (135 specimens of various morphotypes). The aims of the latter research are: 1) to establish the phylogenetic position of neotropical species of *Lecanora* s.l. in genus phylogenesis, including reference material (sequences of tropical species available in GenBank) and based on commonly used molecular markers (ITS + mtSSU); 2) to explain the status of *Lecanora* s.l. representatives from Bolivia on the basis of statistical analyzes (dedicated to the detection and testing of species); 3) phylogenetic analysis of photobionts related to the neotropical species of *Lecanora* s.l.. Preliminary results revealed approximately 30 unreported species from the country and some that might represent undescribed taxa of both myco- and photobiont.

5. Feuerer T. 2005. Checklist of lichens and lichenicolous fungi of Bolivia. Hamburg University, http://www.biologie.uni-hamburg.de/checklists/southamerica/bolivia_1.htm
6. Rodriguez Flakus P., Flakus A., Kukwa M., Etayo J., Lücking R., Isela Meneses R., Rivas Plata E., Stanton D., Truong C., Vargas R., Flakus A. 2014. Preliminary catalogue of lichens and lichenicolous fungi from Bolivia. Version 1.4 . W. Szafer Institute of Botany PAS, Krakow.
7. Śliwa L., Wilk K., Rodriguez Flakus P., Flakus A. 2012. New records of *Lecanora* for Bolivia. Mycotaxon 121: 385–392.
8. Śliwa L., Rodriguez Flakus P., Wilk K., Flakus A. 2014. New records of *Lecanora* for Bolivia. II. Journal article : Polish Botanical Journl 59 (1): 97-103

This research has received funding from the National Science Centre, Poland (project no. 2016/21/B/NZ8/02463). The project is implemented in collaboration with F. Lutzoni Lab at Duke University, USA.

Analiza zbiorowisk grzybów zasiedlających martwe drewno sosnowe na terenie pokłeskowym w Nadleśnictwie Gniezno

Natalia Kartawik, Jolanta Behnke-Borowczyk

Katedra Fitopatologii Leśnej Wydział Leśny i Technologii Drewna Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

natalia.kartawik@up.poznan.pl

Słowa kluczowe: *Pinus sylvestris*, klęska, proces rozkładu

W wyniku wystąpienia gwałtownych wiatrów w sierpniu 2017 roku na terenie Polski, uszkodzeniu uległo 100 532 ha lasów. W związku z tym w pojawiła się znacząca ilość martwego drewna. Może być ono źródłem pożywienia lub siedliskiem życia dla wielu organizmów, przez co korzystnie wpływa na ekosystemy leśne zwiększając ich bioróżnorodność. Obecność dużej ilości obumierających drzew w lasach może mieć również aspekt negatywny, będąc potencjalnym źródłem inoculum patogenów, a tym samym zagrożeniem dla sąsiadujących drzewostanów. W celu poznania zróżnicowania gatunkowego zbiorowisk grzybów zasiedlających martwe drewno przeprowadzono badania na materiale powstałym w wyniku klęski. Próby pobrano w listopadzie 2018 roku. Powierzchnię badawczą stanowiło jedno z wydzieleń (52°N 38'E) na terenie Nadleśnictwa Gniezno (RDLP Poznań), na którym znajdował się dojrzały drzewostan sosnowy. Materiał badawczy został pobrany za pomocą świdra Presslera z drzew stojących, złamanych oraz leżących. Wyznaczono pięć stanowisk, a na każdym z nich wytypowano po trzy drzewa: stojące, które nie zostało uszkodzone (A), złamane, które w wyniku działalności wiatru zostało pozbawione korony, ale jego korzenie są w glebie (B) oraz drzewo leżące, którego system korzeniowy znajduje się na powierzchni ziemi (C).

Pozyskane odwierty zostały roztarte na pył, z którego wyizolowano DNA z wykorzystaniem kitu Bead-Beat A&A Biotechnology zgodnie z protokołem producenta, a następnie przeprowadzono reakcje PCR. Analizie poddano region ITS1 rDNA. Uzyskany produkt sekwencjonowano systemem Illumina przez firmę Genomed S.A. Otrzymane sekwencje zostały porównane z sekwencjami referencyjnymi zdeponowanymi w bazie NCBI za pomocą algorytmu BLAST oraz zidentyfikowane do najniższej możliwej taksonu. Obliczono indeksy różnorodności Margalefa (D–Mg), Shannona (H) i Simpsona (D), Shannona–Evennessa (E) i wskaźnik dominacji Bergera–Parkera (d).

Uzyskane wyniki świadczą o dużym zróżnicowaniu gatunkowym zbiorowisk grzybów zasiedlających martwe drewno. Zidentyfikowano gatunki należące do gromad Ascomycota, Basidiomycota oraz Mucoromycota., Gromada charakteryzująca się największą ilością zidentyfikowanych taksonów grzybów (967) to Ascomycota, a wśród niej najliczniej występował *Lophodermium seditiosum* Minter, Staley & Millar. W gromadzie Basidiomycota zidentyfikowano 605 taksonów, a największy udział miał *Schizophyllum commune* Fr. Najmniej liczna gromada licząca 51 taksonów to Mucoromycota, w której dominował *Umbelopsis isabellina* (Oudem.) W. Gams.

Przeprowadzone badania stanowią wstęp do długoterminowych obserwacji nad zmianami zachodzącymi w zbiorowiskach grzybów, podczas procesów rozkładu martwego drewna sosnowego.

Analysis of fungal communities colonizing pine dead wood in a destroyed area in the Gniezno Forest District

Natalia Kartawik, Jolanta Behnke-Borowczyk

Department of Forest Pathology, Faculty of Forestry and Wood Technology, Poznań University of Life Sciences

natalia.kartawik@up.poznan.pl

Key words: *Pinus sylvestris*, natural disaster, decay process

In August 2017, 100,532 ha of forests were damaged across Poland by severe winds, which significantly increased the amount of dead wood. Although it can act as a source of food or a habitat for many organisms, thereby benefiting forest ecosystems by enhancing their biodiversity, dead wood may also negatively impact adjacent stands, as a potential source of pathogen inoculum. A study was carried out on the material resulting from the disaster to examine the species diversity of fungal communities inhabiting dead wood. The samples were collected in November 2018. The study area was one of the destroyed mature pine stands (52°N 38'E) in the Gniezno Forest District (RDLP Poznań). Research material was collected with a Pressler auger from standing, broken and lying trees. Five sites were delineated, and at each site three trees were selected: a standing tree that was not damaged (A), a broken tree that was deprived of its crown as a result of wind activity, but its roots are in the soil (B), and a lying tree whose root system is on the ground surface (C).

The extracted samples were pulverised, and DNA was then isolated using A&A Biotechnology's Bead-Beat kit according to the manufacturer's instructions, followed by PCR testing. The ITS 1 region of the rDNA was analysed. The resulting product was sequenced with the Illumina system by Genomed S.A. The obtained sequences were then compared with the reference sequences deposited in the NCBI database using the BLAST algorithm and identified to the lowest possible taxon. Margalef (D-Mg), Shannon (H) and Simpson (D) diversity indices, Shannon-Evenness (E) and Berger-Parker dominance index (d) were calculated.

The results testify to the high species diversity of fungal communities inhabiting the dead wood in question. The species belonging to Ascomycota, Basidiomycota and Mucoromycota were identified. Ascomycota phylum was characterised by the highest number of identified fungal taxa (967), with *Lophodermium seditiosum* Minter, Staley & Millar the most abundant among its species. The Basidiomycota was found to contain 605 taxa, among which the *Schizophyllum commune* Fr. proved the most abundant. Mucoromycota was the least abundant taxon (51 taxa), with *Umbelopsis isabellina* (Oudem.) W. Gams. the most dominant among its species.

The conducted studies are a prelude to long-term observations on changes occurring in fungal communities during decomposition processes of dead pine wood.

Ocena różnorodności strukturalnej i funkcjonalnej społeczności grzybów w zdegradowanej chemicznie glebie nawożonej fosforowym bionawozem

Mateusz Macik¹, Agata Gryta¹, Lidia Sas-Paszt², Magdalena Frąc¹

¹*Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk*

²*Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach*

m.macik@ipan.lublin.pl

słowa kluczowe: bioróżnorodność, gleba zdegradowana, bionawozy, t-RFLP, FUNGuild

Grzyby stanowią, obok bakterii i archeonów, elementarną grupę drobnoustrojów zasiedlających gleby uprawne. Pełnią one szereg funkcji, począwszy od rozkładu materii organicznej, tworzenia symbiotycznych oddziaływań z innymi organizmami czy też udostępniania roślinom składników mineralnych, które są istotne dla zachowania równowagi w ekosystemie glebowym [1].

Celem badań było określenie wpływu fosforowego nawozu mineralnego wzbogaconego szczepami pożytecznych bakterii na strukturę i profil funkcjonalny zbiorowisk grzybów zasiedlających zdegradowaną chemicznie glebę uprawną na stanowisku zlokalizowanym w pobliżu kopalni siarki.

Doświadczenie, prowadzone w warunkach polowych, obejmowało następujące warianty nawożenia: FC-dawka optymalna bez wzbogacenia mikrobiologicznego, FA100-dawka optymalna wzbogacona mikrobiologicznie, FA60-dawka wzbogacona mikrobiologicznie zredukowana o 40%. Próbkę gleby do analiz pobrano tydzień po aplikacji nawozów. Strukturę zbiorowisk grzybów określono z wykorzystaniem polimorfizmu długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych (t-RFLP) i oprogramowania TRiFLe [2], natomiast charakterystyka grup ekologicznych została przeprowadzona przy użyciu bazy danych FUNGuild [3].

Uzyskane wyniki wskazują na różnice w społecznościach grzybów pomiędzy glebą kontrolną a wariantami, w których zastosowano bionawozy. W wariantach FA100 i FA60 zaobserwowano większą liczbę terminalnych fragmentów restrykcyjnych (T-RF) niż w wariantach FC. Wykorzystanie narzędzia TRiFLe pozwoliło na identyfikację grzybów w obrębie wybranych T-RFs. Analiza z użyciem bazy danych FUNGuild ujawniła, że badana gleba była zdominowana przez mikroorganizmy należące do dwóch grup ekologicznych: saprotrofów oraz saprotrofów-symbiotrofów. Dokładniejsze spojrzenie w profil funkcjonalny pokazało, że w wariantach FA100 i FA60 zmniejszyła się liczba patogenów zwierzęcych i wzrosła liczba grzybów ektomykoryzowych.

1. Brigde P., Spooner B., (2001), Soil fungi: diversity and detection, *Plant and Soil*, 232: 147-154
2. Junier P., Junier T., Witzel K.P., (2008), TRiFLe, a Program for In Silico Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis with User-Defined Sequence Sets, *Applied and Environmental Microbiology*, 74(20): 6452-6456
3. Nguyen, N.H., Song, Z., Bates, S.T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J.S., Kennedy, P.G., (2016), FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild, *Fungal Ecology*, 20: 241-248

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017.

Assessment of the structural and functional diversity of fungal communities in a chemically degraded soil fertilized with phosphorus biofertilizer

Mateusz Maćik¹, Agata Gryta¹, Lidia Sas-Paszt², Magdalena Frąc¹

¹*Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences*

²*Institute of Horticulture in Skierniewice*

m.macik@ipan.lublin.pl

Key words: biodiversity, degraded soil, biofertilizers, t-RFLP, FUNGuild

Fungi represent, along with bacteria and archaea, an elementary group of microorganisms inhabiting arable soils. They perform a wide range of functions, from organic matter decomposition, establishing symbiotic interactions with other organisms, or providing plants with mineral components that are important for maintaining balance in the soil environment [1].

The aim of the study was to determine the effect of phosphorus mineral fertilizer enriched with strains of beneficial bacteria on the structure and functional profile of fungal communities inhabiting chemically degraded arable soil at the site placed near a sulphur mine.

The study was conducted under field experiment conditions and comprised of the following treatments: FC-optimal dose of fertilizer without microbial enrichment, FA100-optimal dose of fertilizer enriched with microorganisms, and FA60-microbiologically enriched dose reduced by 40%. Soil samples for analysis were taken one week after fertilizers application. Fungal community structure was determined using terminal restriction fragment length polymorphism (t-RFLP) and TRiFLe software [2], while characterization of ecological guilds was performed using the FUNGuild database [3].

The obtained results indicate differences in fungal communities between control soil and treatments where biofertilizers were applied. A higher number of terminal restriction fragments (T-RFs) was observed in FA100 and FA60 than in FC. TRiFLe tool allowed the identification of fungi within selected T-RFs. FUNGuild analysis revealed that the studied soil was dominated by the microorganisms belonging to two ecological guilds: saprotrophs and saprotrophs-symbiotrophs. A deeper look into the functional profile showed that the FA100 and FA60 were characterized by the decreased number of animal pathogens and increased number of ectomycorrhizal fungi.

1. Brigde P., Spooner B., (2001), Soil fungi: diversity and detection, *Plant and Soil*, 232: 147-154
2. Junier P., Junier T., Witzel K.P., (2008), TRiFLe, a Program for In Silico Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis with User-Defined Sequence Sets, *Applied and Environmental Microbiology*, 74(20): 6452-6456
3. Nguyen, N.H., Song, Z., Bates, S.T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J.S., Kennedy, P.G., (2016), FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild, *Fungal Ecology*, 20: 241-248

The work was co-financed by The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017.

Solanka z tężni solankowej – czy to odpowiednie siedlisko dla grzybów?

Paweł Czachura*, Magdalena Owczarek-Kościelniak, Wiktoria Kędzior, Marcin Piątek

Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk

p.czachura@botany.pl

Słowa kluczowe: solanka, tężnia, grzyby halotolerancyjne, czarne drożdże, ekstremofile

Sól bez wątpienia można zaliczyć do jednych z najpowszechniej używanych substancji chemicznych przez ludzi. Pozyskiwanie jej ze środowiska, dystrybucja oraz stosowanie przyczynia się do wykształcenia wielu słonych siedlisk, powstałych w sposób sztuczny, na skutek działalności człowieka [1, 4, 5, 7, 8]. Badania nad mykobiotą słonych siedlisk w otoczeniu człowieka rozpoczęły się stosunkowo późno, ponieważ dopiero na początku XXI wieku [1, 5]. Z tego względu dane na temat różnorodności biologicznej tych interesujących miejsc są bardzo ograniczone. Do takich siedlisk zaliczyć można popularne w ostatnich latach tężnie solankowe [2, 6].

W niniejszych badaniach przeprowadzono izolację grzybów z solanki w tężni solankowej w Dębowcu oraz ich identyfikację przy pomocy metod molekularnych. Wyizolowano 26 gatunków grzybów, w tym 10 nowych dla nauki. Część z nich to gatunki halofilne i halotolerancyjne. Do najciekawszych wyizolowanych gatunków należą: *Salinomyces polonicus* (nowy rodzaj i gatunek) [3], *Neophaeotheca* (nowy gatunek), nowy rodzaj w rzędzie Pleosporales, nowy rodzaj drożdży w podgromadzie Pucciniomycotina oraz *Verrucocladosporium dirinae*. *Salinomyces polonicus* jest rodzajem spokrewnionym z najbardziej halotolerancyjnym grzybem świata – *Hortaea werneckii* [3, 9], traktowanym jako organizm modelowy w studiach nad halotolerancją u eukariontów [9]. Odkrycie *Salinomyces polonicus* poszerzyło wiedzę na temat kładu obejmującego grzyby spokrewnione z *Hortaea werneckii* oraz pozwoliło na rewizję taksonomiczną rodzaju *Hortaea* [3]. Wyniki obecnych badań po raz pierwszy dostarczyły danych na temat składu gatunkowego grzybów zasiedlających solanki w tężniach solankowych.

1. Ali I., Khaliq S., Sajid S., Akbar A. Biotechnological applications of halophilic fungi: Past, present, and future. In *Fungi in Extreme Environments: Ecological Role and Biotechnological Significance*; Tiquia-Arashiro, S., Grube, M., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2019; pp. 291–306.
2. Burkowska A., Donderski W. (2008). Airborne molds in the air of Ciechocinek spa. *Pol. J. Nat. Sci.* 23, 790–800.
3. Czachura P., Owczarek-Kościelniak M., Piątek M. (2021). *Salinomyces polonicus*: A moderately halophilic kin of the most extremely halotolerant fungus *Hortaea werneckii*, *Fungal Biology*, <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.01.003>.
4. Greiner K., Peršoh D., Weig A., Rambold G. (2014). *Phialosimplex salinarum*, a new species of Eurotiomycetes from a hypersaline habitat. *IMA Fungus* 5, 161–172.
5. Gunde-Cimerman N., Zalar P., de Hoog S., Plemenitaš A. (2000). Hypersaline waters in salterns – natural ecological niches for halophilic black yeasts. *FEMS Microbiol. Ecol.* 32, 235–240.
6. Kalwasińska A., Deja-Sikora E., Burkowska-But A., Szabó A., Felföldi T., Kosobucki P., Krawiec A., Walczak M. (2018). Changes in bacterial and archaeal communities during the concentration of brine at the graduation towers in Ciechocinek spa (Poland). *Extremophiles* 22, 233–246.
7. Piñar G., Dalnodar D., Voithl C., Reschreiter H., Sterflinger K. (2016). Biodeterioration risk threatens the 3100 year old staircase of Hallstatt (Austria): possible involvement of halophilic microorganisms. *PloS One* 11 (2), e0148279.
8. Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O. (2002). *Introduction to Food- and Airborne Fungi*, sixth ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht.
9. Zalar P., Zupančič J., Gostinčar C., Zajc J., de Hoog G.S., De Leo F., Azua-Bustos A., Gunde-Cimerman N. (2019). The extremely halotolerant black yeast *Hortaea werneckii* – a model for intraspecific hybridization in clonal fungi. *IMA Fungus* 10, 10.

The brine of graduation tower – is it a suitable habitat for fungi?

Paweł Czachura, Magdalena Owczarek-Kościelniak, Wiktoria Kędzior, Marcin Piątek

W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences

p.czachura@botany.pl

Key words: brine, graduation tower, halotolerant fungi, black yeast, extremophiles

Salt is undoubtedly one of the most commonly used chemical substances by humans. Obtaining it from the environment, distribution and usage leads to the formation of artificial salty habitats [1, 4, 5, 7, 8]. Research on the mycobiota of such habitats began relatively late, only at the beginning of the 21st century [1, 5]. For this reason, data about the biodiversity of these habitats is scarce. Graduation towers are good example of such an artificial salty environment [2, 6].

In this study, fungi from the brine of the graduation tower in Dębowiec were isolated. A molecular study was conducted for species identification. 26 species were detected, including 10 species new to science. Interestingly, many of the isolated species are halophilic and halotolerant fungi. *Salinomyces polonicus* (new genus and species) [3], *Neophaeotheca* (new species), new genus in the Pleosporales, new yeast genus in the Pucciniomycotina and *Verrucocladosporium dirinae* are the most interesting ones. *Salinomyces polonicus* is a genus related to the most halotolerant fungus in the world – *Hortaea werneckii* [3, 9], which is studied as a model for halotolerance in Eukaryotes [9]. A discovery of *Salinomyces polonicus* expanded our knowledge of the fungi included in the *Hortaea werneckii* lineage and led to the taxonomic revision of the genus *Hortaea* [3]. According to the authors' knowledge, the identification of mycobiota from the brine of graduation towers was conducted for the first time.

1. Ali I., Khaliq S., Sajid S., Akbar A. Biotechnological applications of halophilic fungi: Past, present, and future. In *Fungi in Extreme Environments: Ecological Role and Biotechnological Significance*; Tiquia-Arashiro, S., Grube, M., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2019; pp. 291–306.
2. Burkowska A., Donderski W. (2008). Airborne molds in the air of Ciechocinek spa. *Pol. J. Nat. Sci.* 23, 790–800.
3. Czachura P., Owczarek-Kościelniak M., Piątek M. (2021). *Salinomyces polonicus*: A moderately halophilic kin of the most extremely halotolerant fungus *Hortaea werneckii*, *Fungal Biology*, <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.01.003>.
4. Greiner K., Peršoh D., Weig A., Rambold G. (2014). *Phialosimplex salinarum*, a new species of Eurotiomycetes from a hypersaline habitat. *IMA Fungus* 5, 161–172.
5. Gunde-Cimerman N., Zalar P., de Hoog S., Plemenitaš A. (2000). Hypersaline waters in salterns – natural ecological niches for halophilic black yeasts. *FEMS Microbiol. Ecol.* 32, 235–240.
6. Kalwasińska A., Deja-Sikora E., Burkowska-But A., Szabó A., Felföldi T., Kosobucki P., Krawiec A., Walczak M. (2018). Changes in bacterial and archaeal communities during the concentration of brine at the graduation towers in Ciechocinek spa (Poland). *Extremophiles* 22, 233–246.
7. Piñar G., Dalnódar D., Voithl C., Reschreiter H., Sterflinger K. (2016). Biodeterioration risk threatens the 3100 year old staircase of Hallstatt (Austria): possible involvement of halophilic microorganisms. *PloS One* 11 (2), e0148279.
8. Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O. (2002). *Introduction to Food- and Airborne Fungi*, sixth ed. Centraalbureau voor Schimmelfcultures, Utrecht.
9. Zalar P., Zupančič J., Gostinčar C., Zajc J., de Hoog G.S., De Leo F., Azua-Bustos A., Gunde-Cimerman N. (2019). The extremely halotolerant black yeast *Hortaea werneckii* – a model for intraspecific hybridization in clonal fungi. *IMA Fungus* 10, 10.

Nowe szczepy „czarnych drożdży” (Chaetothyriales) wyizolowane z grudek polczkowych mrówki ćmawej (*Formica polyctena*)

Maria Majchrowska¹, Alicja Okrańska¹, Julia Pawłowska¹, Igor Siedlecki²

¹*Instytut Biologii Ewolucyjnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski*

²*Ogród Botaniczny, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski*

m.majchrowska2@student.uw.edu.pl

Słowa kluczowe: Trichomeriaceae, sadzaki, rude mrówki leśne, interakcje grzyby-owady

Chaetothyriales to rząd grzybów workowych obejmujący silnie zmelanizowane, wolno rosnące gatunki, zamieszkujące różnorodne, często ekstremalne środowiska. Chociaż najintensywniej badane są szczepy patogeniczne, to większość reprezentantów Chaetothyriales to wysoce odporne na toksyny gatunki epifityczne i epifityczne. Rząd obejmuje również wiele gatunków związanych z mrówkami: przedstawiciele rodzin Herpotrichiellaceae, Cyphellophoraceae i Trichomeriaceae przerastają ściany gniazd kartonowych wielu gatunków tropikalnych mrówek; a w domatiach, czyli specjalnych strukturach wytwarzanych dla mrówek, przez niektóre gatunki drzew w strefie międzyzwrotnikowej spotkać można przedstawicieli kladu 4 wyłonionego w pracy Quan i współpracowników [1]. Chociaż interakcje mrówek i przedstawicieli Chaetothyriales w strefie międzyzwrotnikowej są w ostatnich latach intensywnie badane, bardzo mało wiadomo o występowaniu takich interakcji w strefie klimatu umiarkowanego. W badaniach nad mykobiota grudek polczkowych mrówki ćmawej (*Formica polyctena*) udało nam się wyizolować trzy szczepy tzw. „czarnych drożdży”. Wstępna analiza molekularna pozwoliła na identyfikację tych szczepów jako przedstawicieli Chaetothyriales, ale równocześnie pokazała, że otrzymane sekwencje markera ITS dla naszych szczepów istotnie różnią się od sekwencji opisanych gatunków dostępnych w bazie danych GenBank.

W ostatnich latach taksonomia całego rzędu Chaetothyriales podlegała wielu zmianom i do tej pory nie jest całkowicie rozstrzygnięta. Problemy, takie jak: brak danych molekularnych, trudna izolacja szczepów, czy występowanie gatunków znanych jedynie z pojedynczych izolacji, dodatkowo utrudniają zrozumienie filogenezy tego rzędu. W naszym badaniu, w celu ustalenia pozycji filogenetycznej wyizolowanych przez nas szczepów, policzyliśmy dwugenowe drzewo największego prawdopodobieństwa (ang. *maximum likelihood*), bazując na dostępnych w bazie NCBI sekwencjach dwóch markerów rybosomalnych: ITS i LSU, dla 254 szczepów Chaetothyriales. Dzięki przeprowadzonym analizom udało nam się osadzić nasze szczepy w rodzinie Trichomeriaceae. Co ciekawe, w rodzinie tej występuje wiele gatunków związanych symbiotycznie z mrówkami. Przeprowadzona przez nas analiza filogenetyczna, wsparta przez dokładny opis morfologii uzyskanych szczepów, pozwoli ustalić, czy otrzymane izolaty to nowe dla nauki gatunki. Dodatkowo, nasze wyniki pozwolą w przyszłości rozwinąć badania nad interakcjami „czarnych drożdży” i mrówek w strefie klimatu umiarkowanego.

1. Quan Y., Muggia L., Moreno L. F., Wang M., Al-Hatmi A. M. S., Menezes N., Shi D., Deng S., Ahmed S., Hyde K. D., Vicente V. A., Kang Y., Stielow J.B., Hoog S., 2020, Re-evaluation of the Chaetothyriales using criteria of comparative biology, *Fungal Diversity* 103:47–85

Novel strains of “black yeast” (Chaetothyriales) isolated from infrabuccal pellets of *Formica polyctena*

Maria Majchrowska¹, Alicja Okraśńska¹, Julia Pawłowska¹, Igor Siedlecki²

¹*Institute of Evolutionary Biology, Faculty of Biology, University of Warsaw, ul. Żwirki i Wigury 101, 02-089 Warsaw, Poland*

²*Botanic Garden, Faculty of Biology, University of Warsaw, Al. Ujazdowskie 4, 00-478 Warsaw, Poland*

m.majchrowska2@student.uw.edu.pl

Key words: Trichomeriaceae, sooty molds, red wood ants, ant-fungal interactions

Chaetothyriales is an order of ascomycetous fungi with highly melanized, slow growing species, which inhabit diverse, often extreme habitats. Although the most intensively studied species are pathogenic, the majority of strains are epilithic or epiphytic and highly resistant to toxins. Many species belonging to this order are associated with ants: representatives of families Herpotrichiellaceae, Cyphellophoraceae and Trichomeriaceae overgrow walls of carton nests of many tropical ants' species. Domatia, special structures produced for ants by some trees in the torrid zone, are inhabited by representatives of clade 4 of Chaetothyriales [1]. Despite intensive research on interactions between ants and Chaetothyriales representatives in the tropics, the occurrence of similar interactions in the temperate climate zone is poorly investigated. In our study on the mycobiota of infrabuccal pellets of *Formica polyctena*, we managed to isolate three strains of “black yeasts”. Preliminary molecular analysis enabled identification of these strains as Chaetothyriales representatives. However, obtained ITS region sequences of the isolated strains are substantially different from sequences available in the GenBank database of already described Chaetothyriales species.

Even though the taxonomy of Chaetothyriales has undergone a lot of changes in recent years, it is still not fully unresolved. Difficulties, such as: lack of molecular data, challenging isolation of strains, or insufficient sampling of some, already described species, make it much harder to understand the phylogeny of this fungal order. In our study, in order to determine the phylogenetic position of our strains, we calculated maximum-likelihood trees, based on the sequences available in the NCBI database of two ribosomal markers: ITS and LSU, for 254 strains of Chaetothyriales. The results of our analysis allowed us to identify our strains as representatives of the Trichomeriaceae family. Interestingly, many species which belong to this family are described as ant mutualists. Phylogenetic analysis carried out in our study, supported by a precise description of morphology of our strains, will allow us to determine if our isolates could be described as newly discovered species. Additionally, our results will hopefully inspire more studies on the subject of ‘black yeasts’ and ants in a temperate climate.

1. Quan Y., Muggia L., Moreno L. F., Wang M., Al-Hatmi A. M. S., Menezes N., Shi D., Deng S., Ahmed S., Hyde K. D., Vicente V. A., Kang Y., Stielow J.B., Hoog S., 2020, Re-evaluation of the Chaetothyriales using criteria of comparative biology, *Fungal Diversity* 103:47–85

Znaczenie i biologia rozwoju *Rhizoctonia solani*

Patrycja Hendel, Ewa Moliszewska, Małgorzata Nabrdalik

Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, Instytut Inżynierii Środowiska i Biotechnologii

patrycja.hendel@uni.opole.pl

Słowa kluczowe: *Rhizoctonia solani*, grupa anastomozowa, cykl życiowy

Rhizoctonia solani jest przedstawicielem grzybów podstawkowych. Grzyby z rodzaju *Rhizoctonia* stanowią ogromną oraz zróżnicowaną grupę, dzieloną ze względu na m.in. liczbę jąder w komórce oraz zdolności do anastomozowania. Efektem tego było powstanie nieformalnego systemu podziału na grupy anastomozowe (AG) [4]. Na chwilę obecną, w obrębie gatunku *R. solani* wyróżniamy 13 grup anastomozowych, które zostały wydzielone na podstawie możliwości zlewania się strzępek grzybni z końcowym efektem określanym jako „killing-reaction” polegającym na zamieraniu łączących się komórek [2, 3, 4]. W swoim cyklu życiowym *R. solani* może funkcjonować jako saprotrof lub pasożyt. Jako pasożyt jest zagrożeniem dla ponad 200 gatunków roślin, szczególnie duże niebezpieczeństwo stanowi dla rolnictwa oraz szkółek leśnych. Powodowane przez niego zgorzele siewek, porażenia bulw, korzeni czy też części nadziemnych mogą powodować ogromne straty w uprawach. *Rhizoctonia solani* doprowadza do pojawiania się przebarwień, plam nekrotycznych i zgnilizny na porażonych tkankach, może powodować także np. skarlenie roślin lub gorszy ich rozwój [1, 2, 6]. Sukces ekologiczny tego grzyba możliwy jest ze względu na zdolność do wytwarzania sklerocjów (przetrwalników), które mogą przetrwać w glebie lub na resztkach roślinnych długi okres czasu, stanowiąc w ten sposób długofalowy problem. Sklerocja licznie mogą powstawać np. na bulwach ziemniaka tworząc płaskie strupki określane jako ospowatość bulw. Walka z *R. solani* odbywa się obecnie jedynie za pomocą sterowania płodozmianem lub z wykorzystaniem fungicydów, na które nabywają odporności. Jedną z dróg uzyskiwania odporności jest zmienność genetyczna pojawiająca się w obrębie gatunku [4, 5]. Zmienność genetyczna tych grzybów może być związana m.in. z cyklem płciowym, jednak stadium doskonałe w klimacie polskim jest spotykane jedynie w specyficznych warunkach pogodowych. Obserwuje się je na podstawach łodyg ziemniaka, który typowo jest porażany przez grupę AG 3 [4, 5, 6]. Stadia płciowe innych grup tego grzyba nie były w Polsce obserwowane oraz nie prowadzono badań nad nimi. W związku z czym nie jest znana pełna biologia grup anastomozowych *R. solani* spotykanych na terenie Polski. Jak do tej pory w Polsce stwierdzono występowanie kilku grup anastomozowych *R. solani*, m. in. AG 1, 2, 3, 4, 5, 11, a także niektóre grupy anastomozowe tzw. dwujądrowych *Rhizoctonia* spp. np. AG-A, AG-E, AG-D, AG-K [2, 3]. Prawdopodobnie występuje też *R. solani* AG 8, typowo porażający zboża, choć nie określano przynależności anastomozowej szczepów *R. solani* izolowanych ze zbóż [2]. To jak wyglądają pełne cykle życiowe *R. solani* na terenie Polski, oraz jak przystosowują się do zmiennych warunków środowiskowych, nie zostało w pełni poznane.

1. Moliszewska E.B., Schneider J.H.M., 2002: Some pathogenic properties of *Rhizoctonia solani* against sugar beet seedlings, Plant Protection Science 38 (2): 322-324.
2. Moliszewska E.B., 2009: Etiologia wybranych chorób korzeni buraka cukrowego, Wydawnictwo Uniwersytetu Opolskiego, Studia i Monografie nr 412, Opole.
3. Moliszewska E. B., Nabrdalik M., Ziembik Z., 2020: *Rhizoctonia solani* AG 11 isolated for the first time from sugar beet in Poland, Saudi Journal of Biological Science, Vol 27, I. 7: 1863-1870.
4. Toda T., Hyakumachi M., 2006: Heterokaryon formation in *Thanatephorus cucumeris* anastomosis group 2-2 IV, Mycologia, 98: 726-736.
5. Qu P., Yamashita K., Toda T., Priyatmojo A., Kubota M., Hyakumoshi M., 2008: Heterokaryon formation in *Thanatephorus cucumeris* (*Rhizoctonia solani*) AG-1 IC, Mycological Research, 112: 1088-1100.
6. Osowski J., Gawińska-Urbanowicz H., 2018: Rizoktonioza ziemniaka - symptomy, warunki sprzyjające wystąpieniu oraz zwalczanie, Ziemniak Polski, 1: 22-30.

Importance and the life cycle of *Rhizoctonia solani*

Patrycja Hendel, Ewa Moliszewska, Malgorzata Nabrdalik

Institute of Environmental Engineering and Biotechnology, Faculty of Natural Sciences and Technology, University of Opole

patrycja.hendel@uni.opole.pl

Key words: *Rhizoctonia solani*, anastomose group, life cycle

Rhizoctonia solani is classified in a division Basidiomycota. *Rhizoctonia* genus is a huge and varied group of fungi, divided due to the numbers of nuclei and the ability to anastomose [4]. Currently, *R. solani* is divided into 13 anastomosis groups (AG) based on hyphal fusion based on the result called “killing reaction” [2, 3, 4]. The life cycle of *R. solani* may consist of the saprobic or parasitic phases. It infects almost 200 plant species, which makes it one of the biggest problems in agriculture and forest nursery. *Rhizoctonia solani* is responsible for damping-off of seedlings, root and tuber rotting, or stem canker. The most popular symptoms of plant infections are black scurf on potatoes, necrotic spots, or root decay. *Rhizoctonia solani* causes also plant stunting and worsened plant growth [1, 2, 6]. Due to the ability of sclerotia production, it survives in the soil for years. Sclerotia can occur in large numbers for example on potato tubers, forming flat scabs referred to as black scurf. Currently, the management of *R. solani* is possible through crop rotation or with fungicides to which they acquire resistance. Resistance to fungicides is gained through genetic variation within a species. The genetic variability within *R. solani* complex-species may be related, among others, to the sexual cycle [4, 5]. However, its' perfect stage develops only in specific climatic conditions in Poland. It is observed on the bases of potato stalks, which are typically infected by group AG 3 [4, 5, 6]. Sexual stages of other groups of this fungal species have not been observed in Poland and no studies have been conducted on them. Therefore, the complete biology of *R. solani* found in Poland is not known. So far, several anastomosis groups of *R. solani* have been found in Poland, including AG 1, 2, 3, 4, 5, 11, as well as some anastomosis groups, the so-called binucleic *Rhizoctonia* spp., e.g. AG-A, AG-E, AG-D, AG-K [2, 3]. Probably there is also *R. solani* AG 8, typically infecting cereals, although the anastomosis groups of *R. solani* strains isolated from cereals have not been determined [2]. So far, the full life cycle of *R. solani*, including the sexual stage and the way of adoption to environmental conditions, has not been examined in Poland.

1. Moliszewska E.B., Schneider J.H.M, 2002: Some pathogenic properties of *Rhizoctonia solani* against sugar beet seedlings, Plant Protection Science 38 (2): 322-324.
2. Moliszewska E.B., 2009: Etiologia wybranych chorób korzeni buraka cukrowego, Wydawnictwo Uniwersytetu Opolskiego, Studia i Monografie nr 412, Opole.
3. Moliszewska E. B., Nabrdalik M., Ziembik Z., 2020: *Rhizoctonia solani* AG 11 isolated for the first time from sugar beet in Poland, Saudi Journal of Biological Science, Vol 27, I. 7: 1863-1870.
4. Toda T., Hyakumachi M., 2006: Heterokaryon formation in *Thanatephorus cucumeris* anastomosis group 2-2 IV, Mycologia, 98: 726–736.
5. Qu P., Yamashita K., Toda T., Priyatmojo A., Kubota M., Hyakumoshi M., 2008: Heterokaryon formation in *Thanatephorus cucumeris* (*Rhizoctonia solani*) AG-1 IC, Mycological Research, 112: 1088-1100.
6. Osowski J., Gawińska-Urbanowicz H., 2018: Rizoktonioza ziemniaka - symptomy, warunki sprzyjające wystąpieniu oraz zwalczanie, Ziemniak Polski, 1: 22-30.

Grzyby zamieszczone na Czerwonej liście grzybów wielkoowocnikowych wśród zbiorowiska grzybów ektomykoryzowych buka pospolitego *Fagus sylvatica* na terenie nadleśnictwa Polczyn-Zdrój, w Drawskim Parku Krajobrazowym

Anna Durska

Zakład Ekologii Roślin i Ochrony Środowiska, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

anna.durska@amu.edu.pl

Słowa kluczowe: buczyna pomorska, gatunki rzadkie, grzyby ektomykoryzowe, ITS rDNA

Drawski Park Krajobrazowy (DPK) położony jest we wschodniej części województwa zachodniopomorskiego. Krajobraz parku został ukształtowany podczas zlodowacenia bałtyckiego. Strome brzegi jezior rynnowych oraz jarów porośnięte są przez płaty żywej buczyny niżowej, zwanej pomorską. Podczas badań nad właściwościami fizyko-chemicznymi gleby pobranych z powierzchni leśnych usytuowanych w buczynie pomorskiej charakteryzujących się wysokim stopniem nachylenia, pobrałam próby korzeni drobnych buka w celu zidentyfikowania symbiontów ektomykoryzowych.

Przeprowadzone zostały obserwacje mikroskopowe oraz identyfikacja grzybów tworzących ektomykoryzy w oparciu o sekwencjonowanie regionu ITS rDNA, powielonego przy użyciu techniki PCR, za pomocą pary starterów KYO2 [1]. Analiza sekwencji wykazała obecność gatunków grzybów rzadkich oraz krytycznie zagrożonych wymarciem. Analizy molekularne pozwoliły udokumentować występowanie na terenie DPK trzech gatunków z Czerwonej listy grzybów wielkoowocnikowych [2]: *Russula curtipes* (kategoria – R), *Tuber puberulum* (kategoria – I) oraz *Byssocorticium atrovirens* (kategoria – E).

1. Toju H., Tanabe A.S., Yamamoto S., Sato H. High-coverage ITS primers for the DNA-based identification of as-comycetes and basidiomycetes in environmental samples. PLoS ONE. 2012;7:e40863. doi: 10.1371/journal.pone.0040863.

2. Wojewoda, W., Ławrynowicz, M. 2006. Czerwona lista grzybów wielkoowocnikowych w Polsce. W: Mirek Z., Zarzycki K., Wojewoda W., Szelański Z. (Eds.). Czerwona lista roślin i grzybów Polski. Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN. Kraków.

Fungi from the Red List of macromycetes among the ectomycorrhizal fungi community of the European beech *Fagus sylvatica* in the Polczyn-Zdrój forest district, in the Drawski Landscape Park, Poland

Anna Durska

Department of Plant Ecology and Environmental Protection, Adam Mickiewicz University, Poznań

anna.durska@amu.edu.pl

Key words: ITS rDNA, ectomycorrhizal fungi, Pomeranian beech forest, rare species of fungi

Drawsko Landscape Park (DLP) is located in the eastern part of the West Pomeranian Voivodeship in Poland. The landscape of it was formed during the Baltic Glaciation. The steep shores of the glacial lakes and ravines are treed with patches of the Pomeranian beech forest. During my research conducted on the physicochemical properties of soil samples taken from a forest on a slope located there, I also took samples of fine roots in order to identify ectomycorrhizal symbionts coexisting with beeches.

Microscopic observations of collected roots was performed, and identification of ectomycorrhizae was based on sequencing of the ITS rDNA region amplified in PCR reaction, using KYO2 primers [1]. Sequence analysis revealed the presence of rare and critically endangered fungal species. Molecular analyses made it possible to document the presence of three species from the Red list of macromycetes fungi in the DLP [2], which are: *Russula curtipes* (category – R), *Tuber puberulum* (category – I), and *Byssocorticium atrovirens* (category – E).

1. Toju H., Tanabe A.S., Yamamoto S., Sato H. High-coverage ITS primers for the DNA-based identification of ascomycetes and basidiomycetes in environmental samples. PLoS ONE. 2012;7:e40863. doi: 10.1371/journal.pone.0040863.
2. Wojewoda W., Ławrynowicz M. 2006. Red list of the macrofungi in Poland. In: Mirek Z., Zarzycki K., Wojewoda W., Szeląg Z. (Eds.). Red list of plants and fungi in Poland. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences. Krakow

Wstępne badania grzybów wielkoowocnikowych rezerwatu biosfery Machupicchu

Mario Callalli Chancahuana¹, Carlos A. Salvador-Montoya², Maria E. Holgado Rojas¹

¹*Department of Biology, Faculty of Sciences, National University of San Antonio Abad of Cusco, Perú*

²*National Council for Scientific and Technical Research – CONICET, Instituto de Botanica del Nordeste – IBONE, Mycology Laboratory, Northeastern National University, Corrientes, Argentina
biomar6@gmail.com*

Słowa kluczowe: zróżnicowanie grzybów, rozmieszczenie pionowe, grzyby wielkoowocnikowe, Wiñaywayna, Machupicchu,

Sanktuarium historyczne Machupicchu jest czymś więcej niż tylko zbiorem archeologicznych zabytków. Usytuowane +/- 2430 m n.p.m. jest miejscem zróżnicowanym pod względem pięter roślinności i miejscem styku Andów Peruwiańskich i basenu Amazonki. Tu, na powierzchni 32, 592 hektarów lasu otaczającego archeologiczne zabytki znane jako „La Ciudadela” chronione są również różnorodne ekosystemy. Szczególnie interesującym miejscem jest Wiñaywayna, gdzie były prowadzone niniejsze badania. Celem prezentowanej pracy jest przygotowanie spisu i określenie różnorodności grzybów wielkoowocnikowych regionu. Intensywne zbiory owocników były prowadzone w trzech linearnych transektach o długości 1000 m i szerokości 2 metrów, w czasie czterech terenowych ekspedycji. Szerokie zróżnicowanie grzybów i relatywnie wyrównane rozmieszczenie zanotowano w transektach, odpowiadające zróżnicowaniu klimatycznemu, wysokościowemu, oraz co za tym idzie również florystycznemu. Rezultaty badań przyczyniają się do wzrostu wiedzy o fundzie obszaru chronionego jako rezerwatu biosfery UNESCO i całego regionu Cusco. Ogólnie zebrano 397 owocników różnych gatunków grzybów. 23 z nich (5.79%) zaliczono do Ascomycota, a 374 (94.21%) do Basidiomycota. Z tej liczby 79 gatunków udało się zidentyfikować na podstawie cech morfologicznych. Taksonomicznie można je podzielić pomiędzy dwa typy, sześć klas, 18 rzędów, 45 rodzin i 87 rodzajów, w większości należących do podstawczaków. Tylko osiem z oznaczonych grzybów (10.13%) zakwalifikowano do workowców i aż 71 (89.87%) do podstawczaków.

Preliminary study of macromycetes in the historical sanctuary of Machupicchu, Cusco, Peru

Mario Callalli Chancahuana¹, Carlos A. Salvador-Montoya², Maria E. Holgado Rojas¹

¹*Department of Biology, Faculty of Sciences, National University of San Antonio Abad of Cusco, Perú*

²*National Council for Scientific and Technical Research – CONICET, Instituto de Botanica del Nordeste – IBONE, Mycology Laboratory, Northeastern National University, Corrientes, Argentina*

biomar6@gmail.com

Key words: fungal diversity, altitudinal distribution, macromycetes, Wiñaywayna, Machupicchu,

The Historic Sanctuary of Machupicchu is more than just a set of archaeological sites. Situated +/- 2430 m above sea level is a place containing different altitudinal floors, and it's a meeting point between the Peruvian Andes and Amazon Basin. There, on the area of 32, 592 hectares of forest surrounding the archeological monument of "La Ciudadela" diverse ecosystems are protected. Particularly interesting is Wiñaywayna, where the present investigation was carried out. My study was established to evaluate the diversity of macromycetes occurring in the region. The intensive collections were carried out in three linear transects of approximately 1000 m long by two meters wide, carrying out four field expeditions. A wide fungal diversity and a relatively uniform distribution were recorded that share similarity between altitudinal gradients, in terms of floristic composition and climatic parameters, with exceptions of some species occurring at higher altitudinal ranges what corresponds to the variations in floristic composition and climatic parameters. The results contribute to the scientific mycological knowledge of macromycetes in the UNESCO protected area and the Cusco region. A total of 397 macromycetes specimens were collected, of which 23 specimens (5.79%) belong to the Ascomycota and 374 (94.21%) to Basidiomycota. Of these, 79 species were identified at a morphological level, distributed and taxonomically categorized into two divisions, six classes, 18 orders, 45 families, and 87 genera, mostly belonging to the Basidiomycota. Eight of the determined specimens (10.13%) belong to the Ascomycota and 71 (89.87%) to Basidiomycota.



POLSKIE TOWARZYSTWO
MYKOLOGICZNE



Mykologia medyczna

Cytotoksyczność szczepów *Aspergillus fumigatus* izolowanych z masek filtrujących 3M stosowanych do ochrony dróg oddechowych w zakładach sortowania odpadów

Monika Huse-Kutowska, Magdalena Twarużek, Ewelina Soszczyńska

Katedra Fizjologii i Toksykologii, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy

monika.huse-kutowska@ukw.edu.pl

Słowa kluczowe: cytotoksyczność, *Aspergillus fumigatus*, narażenie zawodowe, test MTT

Badania prowadzone w zakładach gospodarki odpadami komunalnymi wskazują, iż grzyby *Aspergillus* są najczęściej spotykanym rodzajem w sortowniach odpadów, spalarniach i kompostowniach [1, 2]. W celu ochrony dróg oddechowych pracownicy tych zakładów stosują jednorazowe maski filtrujące (FRPD-Filtering Respiratory Protective Devices). Zawory wydechowe masek znajdują się blisko nosa i ust pracowników, a wilgotność i temperatura podczas stosowania masek filtrujących stanowią sprzyjające warunki dla wzrostu i rozwoju grzybów z rodzaju *Aspergillus* co może narażać drogi oddechowe na czynniki biologiczne. Celem badania była ocena cytotoksyczności szczepów *Aspergillus fumigatus* izolowanych z masek filtrujących typu 3M względem linii komórkowej nabłonka nerek świńskich (SK) oraz linii komórkowej gruczołakoraka płuc (A549). Badaniu poddano 133 ekstrakty *Aspergillus fumigatus*, a do oceny cytotoksyczności wykorzystano test MTT, dla którego zastosowano trójstopniową skalę: 1 – niska cytotoksyczność (IC₅₀ 31,25 - 7,813 cm²/ml), 2 – średnia cytotoksyczność (IC₅₀ 3,906 – 0,488 cm²/ml), 3 – wysoka cytotoksyczność (IC₅₀ 0,244 cm²/ml - 0,0953 mm²/ml). Wyniki uzyskane w badaniu z wykorzystaniem linii komórkowej SK wskazują, iż 5 % próbek wykazywało niską cytotoksyczność, 17 % średnią, a 78 % wysoką. Podobnie kształtowała się ocena cytotoksyczności w badaniu z wykorzystaniem linii komórkowej A549 gdzie 4,5 % próbek wykazywało niską cytotoksyczność, 7,5 % średnią, a 88% wysoką. Uzyskane wyniki wskazują na zasadność prowadzenia dalszych badań w tym kierunku, aby móc szacować ryzyko narażenia układu oddechowego na *Aspergillus fumigatus* będącego najczęstszym czynnikiem etiologicznym aspergilozy płuc.

1. Viegas C., Dias M., Almeida B., Caetano L.A., Carolino E., Gomes A.Q. at all, Are workers from waste sorting industry really protected by wearing Filtering Respiratory Protective Devices? The gap between the myth and reality. Waste Management, 2020
2. Akpeimeh G.F., Fletcher L.A., Evans B.E., Ibanga I.E., Quantitative Microbial Risk Assessment (QMRA) of Workers Exposure to Bioaerosols at MSW Open Dumpsites. Risk Analysis, 2020

Cytotoxicity of *Aspergillus fumigatus* strains isolated from 3M Filtering Respiratory Protective Devices (FRPD) from the waste sorting industry

Monika Huse-Kutowska, Magdalena Twarużek, Ewelina Soszczyńska

Department of Physiology and Toxicology, Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz

monika.huse-kutowska@ukw.edu.pl

Key words: cytotoxicity, *Aspergillus fumigatus*, occupational exposure, MTT assay

Studies performed on waste management industry have reported *Aspergillus* as the most frequent genera on waste-sorting, incineration and composting [1, 2]. The use of Filtering Respiratory Protective Devices (FRPD) should to protect workers from the exposure risks. The exhalation valves are very close to workers' nose and mouth, being a source for exposure by inhalation. During FRPD use, humidity and temperature conditions provide a favorable environment for *Aspergillus* growth retained, be of relevance for workers exposure assessment to bioburden. The aim of this study is to evaluate the cytotoxicity of the contamination present in the filtering masks (FRPD). For this purpose, the cytotoxicity effects of filtering masks contamination were determined in two different cell lines (swine kidney (SK) cell lines and human (A549) adenocarcinoma cell lines). One hundred and thirty-three *Aspergillus fumigatus* sample extracts were tested, and the MTT test was used to assess the cytotoxicity. Cytotoxic effect was classified three-level scale: 1 – low cytotoxicity (IC_{50} 31.25 – 7.813 cm^2/ml), 2 – medium cytotoxicity (IC_{50} 3.906 – 0.488 cm^2/ml), 3 – high cytotoxicity (IC_{50} 0.244 cm^2/ml – 0.0953 mm^2/ml). On the basis of the obtained results for the cytotoxic effect of FRPD samples on two different cells lines, it was determined that A549 cells and SK cells exhibited a cytotoxic effect. In SK cells, a cytotoxic effect was observed in all samples, of which 5 % displayed a low cytotoxic effect, 17% medium and 78% high. The assessment of cytotoxicity on A549 cells is similar, with 4.5% of samples showing low cytotoxicity, 7.5% medium, and 88% high. The obtained results show how it is necessary to conduct further research in this field for better risk characterization of *Aspergillus fumigatus*, which is the most common etiological factor of the lung aspergillosis.

1. Viegas C., Dias M., Almeida B., Caetano L.A., Carolino E., Gomes A.Q. at all, Are workers from waste sorting industry really protected by wearing Filtering Respiratory Protective Devices? The gap between the myth and reality. Waste Management, 2020
2. Akpeimeh G.F., Fletcher L.A., Evans B.E., Ibanga I.E., Quantitative Microbial Risk Assessment (QMRA) of Workers Exposure to Bioaerosols at MSW Open Dumpsites. Risk Analysis, 2020

Daleki transport zarodników *Alternaria* w atmosferze w Europie Środkowej

Julia Gwiazdowska¹, Donat Magyar², Kazimiera Chlopek³, Agnieszka Grinn-Gofroń⁴, Asad Siddiquee¹, Nicoleta Ianovici⁵, Idalia Kasprzyk⁶, Magdalena Wójcik⁶, Janka Lafférová⁷, Barbara Majkowska-Wojciechowska⁸, Dorota Myszowska⁹, Victoria Rodinkova¹⁰, Mykryta Bortnyk¹¹, Małgorzata Malkiewicz¹², Krystyna Piotrowska-Weryszko¹³, Anna Sulborska¹³, Ondrej Rybniček¹⁴, Jana Ščevková¹⁵, Branko Šikoparija¹⁶, Carsten Ambelas Skjøth¹⁷, Matt Smith¹⁷, Paweł Bogawski¹⁸, Łukasz Grewling¹

¹ Laboratorium Aerobiologii, Zakład Botaniki Systematycznej i Środowiskowej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska ² National Public Health Institute, Budapeszt, Węgry ³ Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Śląski, Katowice, Polska ⁴ Instytut Biologii, Uniwersytet Szczeciński, Polska ⁵ Faculty of Chemistry, Biology, and Geography, West University of Timisoara, Rumunia ⁶ Zakład Monitoringu Środowiska, Uniwersytet Rzeszowski, Poland ⁷ Department of Environmental Biology, Public Health Office, Banská Bystrica, Słowacja ⁸ Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska ⁹ Zakład Alergologii Klinicznej i Środowiskowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Poland ¹⁰ National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraina ¹¹ Vasyl' Stus Donetsk National University, Vinnytsia, Ukraina ¹² Instytut Nauk Geologicznych, Uniwersytet Wrocławski, Polska ¹³ Katedra Botaniki i Fizjologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Polska ¹⁴ Paediatric Department, Allergy Unit, Masaryk University and University Hospital Brno, Brno, Republika Czeska ¹⁵ Department of Botany, Faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Bratislava, Słowacja ¹⁶ BioSense Institute - Research Institute for Information Technologies in Biosystems, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia ¹⁷ School of Science and the Environment, University of Worcester, Worcester, Wielka Brytania ¹⁸ Laboratorium Biologicznych Informacji Przestrzennych, Zakład Botaniki Systematycznej i Środowiskowej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

julgwi@st.amu.edu.pl

Słowa kluczowe: aerobiologia, *Alternaria*, HYSPLIT, monitoring zarodników grzybów, Nizina Panońska

W Europie najwyższe stężenia zarodników grzybów z rodzaju *Alternaria* w powietrzu są przede wszystkim notowane nad obszarami rolniczymi, np. nad Niziną Panońską w Europie południowo-środkowej. W Polsce (Europa Środkowa), główny szczyt sezonu zarodnikowania dla rodzaju *Alternaria* występuje w miesiącach letnich [1, 2]. Jednakże, epizody podwyższonego stężenia zarodników w powietrzu obserwowane są również we wrześniu i październiku, co sugeruje napływ zarodników ze źródeł nielokalnych. W tej pracy, testujemy hipotezę, że Nizina Panońska jest źródłem zarodników *Alternaria* notowanych w Polsce po głównym okresie zarodnikowania. Zarodniki *Alternaria* (2005-2019) zostały zebrane przy pomocy aparatów wolumetrycznych typu Hirst zlokalizowanych w 39 punktach pomiarowych zlokalizowanych wzdłuż potencjalnego napływu mas powietrza, tj. od Serbii i Węgier, przez Słowację, Czechy i północną Polskę. Trzy potencjalne epizody dalekiego transportu, 24-25 wrzesień 2010, 18-19 wrzesień 2014 oraz 3-4 października 2015, zostały wyselekcjonowane i scharakteryzowane z wykorzystaniem analiz trajektorii wstecznych mas powietrza, modelowania dyspersji, dobowych danych o stężeniu zarodników, opisu lokalnych warunków pogodowych oraz wielkoskalowych warunków synoptycznych. Podczas analizowanych epizodów wzrost stężenia zarodników *Alternaria* w Poznaniu był zaobserwowany w nietypowym okresie, np. w nocy lub we wczesnych godzinach rannych, co znaczenie różni się od typowego dobowego wzoru zarodnikowania. W tych dniach stężenie zarodników na Nizinie Panońskiej było bardzo wysokie (>1000 zarodników/m³). Obecność nielokalnych ziaren pyłku ambrozji, rośliny powszechnie występującej na Nizinie Panońskiej, została również zanotowana. Modelowanie transportu atmosferycznego wykazało, że potencjalne źródła zarodników *Alternaria* są prawdopodobnie zlokalizowane w północno-zachodniej części Niziny Panońskiej, na północ od Średniogórza Zadunajskiego. Nasze badania wspierają hipotezę, że zarodniki *Alternaria* są transportowane na dalekie odległości z Niziny Panońskiej do Polski. Epizody te mogą powodować wyraźny lokalny wzrost stężenia zarodników i stanowić zagrożenie zarówno dla zdrowia ludzi jak i roślin.

1. Kasprzyk, I. i in., 2015. Air pollution by allergenic spores of the genus *Alternaria* in the air of central and eastern Europe. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 9260-9274.
2. Skjøth, C.A. i in., 2016. *Alternaria* spores in the air across Europe: abundance, seasonality and relationships with climate, meteorology and local environment. *Aerobiologia*, 32: 3-22.

Long-range atmospheric transport of *Alternaria* spores in Central Europe

Julia Gwiazdowska¹, Donat Magyar², Kazimiera Chlopek³, Agnieszka Grinn-Gofroń⁴, Asad Siddiquee¹, Nicoleta Ianovici⁵, Idalia Kasprzyk⁶, Magdalena Wójcik⁶, Janka Lafférová⁷, Barbara Majkowska-Wojciechowska⁸, Dorota Myszkowska⁹, Victoria Rodinkova¹⁰, Mykryta Bortnyk¹¹, Małgorzata Malkiewicz¹², Krystyna Piotrowska-Weryszko¹³, Anna Sulborska¹³, Ondrej Rybniček¹⁴, Jana Ščevková¹⁵, Branko Šikoparija¹⁶, Carsten Ambelas Skjøth¹⁷, Matt Smith¹⁷, Paweł Bogawski¹⁸, Łukasz Grewling¹

¹ Laboratory of Aerobiology, Department of Systematic and Environmental Biology, Adam Mickiewicz University, Poznań, Poland

² National Public Health Institute, Budapest, Hungary ³ Faculty of Natural Sciences University of Silesia Katowice, Poland

⁴ University of Szczecin, Institute of Biology, Szczecin, Poland ⁵ Faculty of Chemistry, Biology, and Geography, West University of Timisoara, Romania, ⁶ Department of Environmental Monitoring, University of Rzeszów, Rzeszów, Poland ⁷ Department of Environmental Biology, Public Health Office, Banská Bystrica, Slovakia ⁸ Department of Immunology and Allergy, Medical University of Łódź, Łódź, Poland ⁹ Jagiellonian University Medical College, Department of Clinical and Environmental Allergology, Kraków, Poland ¹⁰ National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine, ¹¹ Vasyl' Stus Donetsk National University, Vinnytsia, Ukraine, ¹² Institute of Geological Sciences, University of Wrocław, Poland ¹³ Department of Botany and Plant Physiology, University of Life Sciences in Lublin, Poland ¹⁴ Paediatric Department, Allergy Unit, Masaryk University and University Hospital Brno, Brno, Czech Republic ¹⁵ Department of Botany, Faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Bratislava, Slovakia ¹⁶ BioSense Institute - Research Institute for Information Technologies in Biosystems, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia ¹⁷ School of Science and the Environment, University of Worcester, Worcester, United Kingdom ¹⁸ Laboratory of Biological Spatial Information, Department of Systematic and Environmental Biology, Adam Mickiewicz University, Poznań, Poland

julgwi@st.amu.edu.pl

Key words: aerobiology, *Alternaria*, HYSPLIT, fungal spore monitoring, Pannonian Plain

In Europe, the highest concentrations of airborne *Alternaria* spores are predominantly recorded from rural areas, e.g. over the Pannonian Plain in South-Central Europe. In Poland (Central Europe), the main peak in airborne *Alternaria* spore concentration occurs in summer months [1, 2]. However, episodes of increased *Alternaria* spore levels were also recorded in September and October, suggesting a non-local origin of spores. In this study, we test the hypothesis that the Pannonian Plain is the source of *Alternaria* spores recorded in Poland after the main sporulation season. Airborne *Alternaria* spores (2005-2019) were collected using volumetric Hirst spore traps located in 39 locations along the potential pathways of air masses, i.e., from Serbia and Hungary, through Slovakia and the Czech Republic, to Northern Poland. Three potential episodes of LDT, i.e. 24-25 September 2010, 18-19 September 2014, and 3-4 October 2015, have been selected and characterized using back trajectories analysis, dispersal modelling, diurnal spore data analysis, description of local weather and mesoscale synoptic conditions. During selected episodes, an increase in *Alternaria* spore concentration in Poznań were recorded at unusual times, i.e. at night or morning hours, deviating from the typical diurnal pattern. *Alternaria* spore concentrations in Pannonian Plain were very high (>1000 spores/m³) that time. The presence of non-local *Ambrosia* pollen, common to Pannonian Plain, were also observed in the air. Atmospheric transport modelling showed that the potential source area of *Alternaria* spores is likely located in northwest part of Pannonian Plain, on the north of *Transdanubian Mountains*. Our results support the hypothesis that *Alternaria* spores are transported over long distances from the Pannonian Plain to Poland. These spores may markedly increase local exposure to *Alternaria* spores in the receptor area and pose a risk to both human and plants health.

1. Kasprzyk, I. et al., 2015. Air pollution by allergenic spores of the genus *Alternaria* in the air of central and eastern Europe. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 9260-9274.
2. Skjøth, C.A. et al., 2016. *Alternaria* spores in the air across Europe: abundance, seasonality and relationships with climate, meteorology and local environment. *Aerobiologia*, 32: 3-22.

Rola metabolizmu lipidów w interakcjach grzybów: patogenność i symbioza

Blanka Sokolowska¹, Małgorzata Orlowska², Alicja Okraśńska¹, Julia Pawłowska¹, Anna Muszewska²

¹*Instytut Biologii Ewolucyjnej, Wydział Biologii, Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych, Uniwersytet Warszawski*

²*Instytut Biofizyki i Biochemii, Polska Akademia Nauk*

bo.sokolowska@student.uw.edu.pl

Słowa kluczowe: lipidy, patogenność, mykoryza, bakterie wewnątrzstrzępkowe

Metabolizm lipidów grzybów pomimo swojej istotności, jest wciąż słabo poznanym zagadnieniem. Poza udziałem w podstawowych procesach życiowych komórki, jest zaangażowany w wiele aspektów ekologii grzybów; poczynając od przystosowywania się do zmian środowiskowych, a kończąc na udziale w interakcjach międzygatunkowych [2]. Grzyby wchodzą w cały wachlarz różnych relacji z innymi organizmami. Lipidy z racji swojej struktury są świetnymi mediatorami komunikacji, gdyż z łatwością przenikają przez błony komórkowe. Różne szlaki metaboliczne tłuszczów mają znaczenie w różnych typach interakcji i odpowiednie zmodyfikowanie produkcji konkretnych typów tłuszczów może zupełnie zmienić dynamikę oddziaływań między grzybami a innymi organizmami.

Badanie lipidomu jest szczególnie istotne z punktu widzenia medycyny. Komunikacja między grzybami patogennymi a ludzkimi komórkami odpornościowymi odbywa się przy pomocy lipidowych cząsteczek sygnałowych (np. oksylipiny). Elementy lipidomu grzybów (np. ergosterol) są celami dla leków stosowanych w terapiach przeciwgrzybiczych [4,5]. W biotechnologii tzw. „grzyby oleiste” znalazły zastosowanie w syntezie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) do produkcji m.in. biodiesla [1]. Metabolizm tłuszczów jest również zaangażowany w tworzenie interakcji pomiędzy arbuskularnymi grzybami mykoryzowymi a roślinami [6]. Regulacja stosunku ilościowego triacyloglicerolu (TAG) do fosfatydyloetanoaminy (PE) jest istotnym elementem ustanawiania relacji symbiotycznej między *Rhizopus microsporus* a bakteriami wewnątrzstrzępkowymi z rodziny Burkholderiaceae [3]. W niniejszej prezentacji przedstawimy zgromadzone na podstawie literatury informacje dotyczące lipidomu wczesnych ewolucyjnie grzybów i ukażemy różnice w metabolizmie tłuszczów poszczególnych grup taksonomicznych. Być może rzuci to nowe światło na istotność mało badanego do tej pory obszaru metabolizmu tych organizmów.

1. Dourou M., Mizerakis P., Papanikolaou S. *et al.* 2017. Storage lipid and polysaccharide metabolism in *Yarrowia lipolytica* and *Umbelopsis isabellina*. Appl Microbiol Biotechnol 101, 7213–7226. doi.org/10.1007/s00253-017-8455-6
2. Muro E., Atilla-Gokcumen G. E., Eggert U. S. 2014. Lipids in cell biology: how can we understand them better?. Mol Biol Cell. 25(12):1819-1823. doi:10.1091/mbc.E13-09-0516
3. Lastovetsky O., Gaspar M., Mondo S., Labutti K., *et al.* 2016. Lipid metabolic changes in an early divergent fungus govern the establishment of a mutualistic symbiosis with endobacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences. 113:15102–15107. 10.1073/pnas.1615148113.
4. Rella A., Farnoud A. M., Del Poeta M. 2016. Plasma membrane lipids and their role in fungal virulence. Progress in Lipid Research. 61: 63-72. doi.org/10.1016/j.plipres.2015.11.003.
5. Rhome R., Del Poeta M. 2009. Lipid signaling in pathogenic fungi. Annu Rev Microbiol. 63:119-131. doi:10.1146/annurev.micro.091208.073431
6. Rich M. K., Nouri E., Courty P. E., Reinhardt D. 2017. Diet of Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Bread and Butter? Trends Plant Sci.(8):652-660. doi: 10.1016/j.tplants.2017.05.008. Epub 2017 Jun 13. PMID: 28622919.

The role of lipid metabolism in fungal interactions: pathogenicity and symbiosis

Blanka Sokolowska¹, Małgorzata Orlowska², Alicja Okraśńska¹, Julia Pawłowska¹, Anna Muszewska²

¹*Institute of Evolutionary Biology, Faculty of Biology, Biological and Chemical Research Centre, University of Warsaw*

²*Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences*

bo.sokolowska@student.uw.edu.pl

Key words: lipids, pathogenicity, mycorrhiza, endohyphal bacteria

Despite its importance, the lipid metabolism of fungi is still insufficiently studied. Aside from its involvement in basic cell functions, it also takes part in many aspects of ecology of fungi; from adapting to changing environment, to interspecies interactions [2]. Fungi participate in a range of different interactions with other organisms. Lipids due to their unique structure are excellent mediators of these relations, because they are able to penetrate cell membranes easily. Different metabolic pathways are involved in different types of interactions and appropriate modification of lipid biosynthesis may completely change the dynamics of relationships between fungi and other organisms.

Studying the lipidome is especially important from a medical perspective. Cross-talk between pathogenic fungi and human immune cells uses lipid signaling molecules (e.g. oxylipins). Fungal lipidome elements are drug targets (e.g. ergosterol) in anti-fungal therapies [4,5]. In biotechnology SCO (single-cell oils) are used to synthesize polyunsaturated fatty acids (PUFA) for biodiesel production [1]. It is also involved in establishing interactions between arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and plants [6]. Regulation of triacylglycerol (TAG) and phosphatidylethanolamine (PE) ratio is essential in establishing the symbiosis between *Rhizopus microsporus* and endohyphal bacteria from Burkholderiaceae family [3]. We will present literature data on the lipidome of early-divergent fungi and we will try to emphasize the differences between lipid metabolism of different fungal taxa. Perhaps it will shed new light on this still understudied area of these organisms' metabolism.

1. Dourou M., Mizerakis P., Papanikolaou S. *et al.* 2017. Storage lipid and polysaccharide metabolism in *Yarrowia lipolytica* and *Umbelopsis isabellina*. *Appl Microbiol Biotechnol* 101, 7213–7226. doi.org/10.1007/s00253-017-8455-6
2. Muro E., Atilla-Gokcumen G. E., Eggert U. S. 2014. Lipids in cell biology: how can we understand them better? *Mol Biol Cell*. 25(12):1819-1823. doi:10.1091/mbc.E13-09-0516
3. Lastovetsky O., Gaspar M., Mondo S., Labutti K., *et al.* 2016. Lipid metabolic changes in an early divergent fungus govern the establishment of a mutualistic symbiosis with endobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113:15102–15107. 10.1073/pnas.1615148113.
4. Rella A., Farnoud A. M., Del Poeta M. 2016. Plasma membrane lipids and their role in fungal virulence. *Progress in Lipid Research*. 61: 63-72. doi.org/10.1016/j.plipres.2015.11.003.
5. Rhome R., Del Poeta M. 2009. Lipid signaling in pathogenic fungi. *Annu Rev Microbiol*. 63:119-131. doi:10.1146/annurev.micro.091208.073431
6. Rich M. K., Nouri E., Courty P. E., Reinhardt D. 2017. Diet of Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Bread and Butter? *Trends Plant Sci.*(8):652-660. doi: 10.1016/j.tplants.2017.05.008. Epub 2017 Jun 13. PMID: 28622919.

Unikalna zdolność gatunków kompleksu *Cryptococcus neoformans*/*C. gattii* do tworzenia komórek olbrzymich przy jednoczesnej wrażliwości na komponenty surowicy

Klaudyna Spychala¹, Rodney J. Colon-Reyes², Lukasz Kozubowski², Mariusz Dyląg¹

¹Zakład Mykologii i Genetyki, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polska

²Department of Genetics and Biochemistry, Clemson University, Clemson, Karolina Południowa, Stany Zjednoczone

299130@uwr.edu.pl

Słowa kluczowe: *Cryptococcus*, komórki olbrzymie, surowica

Gatunki z kompleksu *Cryptococcus neoformans*/*C. gattii* są wyjątkowe pod względem liczby czynników wirulencji, które występując jednocześnie umożliwiły tym gatunkom ewolucję w patogeny ludzkie. Jednym z kluczowych dla rozwoju infekcji czynników zjadliwości jest zdolność tworzenia komórek olbrzymich (ang. Titan cells), które skutecznie unikają fagocytozy ze strony komórek układu immunologicznego gospodarza. Komórki olbrzymie osiągają rozmiary 2-20 razy większe niż normalne komórki, generują haploidalne lub aneuploidalne komórki potomne, które wykazują istotną oporność na czynniki fizyko-chemiczne i leki przeciwgrzybicze, co w kontekście ochrony przed reaktywnymi formami tlenu (ROS) sprzyja rozwojowi infekcji [1,2]. Jak dotąd, nie zostało określone, które gatunki w obrębie anamorficznego rodzaju *Cryptococcus* są zdolne do ich tworzenia. Opierając się na ostatnio opublikowanych [2-4] trzech protokołach *in vitro*, wykazaliśmy, że z puli przebadanych gatunków drożdży podstawkowych i workowych tą unikalną zdolność wykazują jedynie dwa patogenne gatunki, mianowicie *C. neoformans* i *C. gattii*. Ponadto, przeprowadzone badania pozwoliły wykazać, że w warunkach sprzyjających tytaniczacji *in vitro* płodowa surowica bydlęca (FBS) wykazuje jednocześnie aktywność bójczą (lityczną) oraz hamującą wzrost i proliferację komórek *C. neoformans*/*C. gattii*, jeśli inkubację prowadzi się w normalnej atmosferze bez suplementacji w 5% CO₂. Z drugiej strony, obniżenie pH lub dodanie naturalnych przeciwutleniaczy chroni komórki przed efektem inhibicji wzrostu/bójczym ze strony komponentów FBS nawet przy braku inkubacji w atmosferze wzbogaconej w 5% CO₂. Wykazano też, że efekt bójczy jest dobrze widoczny przy małej gęstości komórek. Co więcej, badania prowadzone na mutantach bezotoczkowych sugerują, że otoczka polisacharydowa odgrywa istotną rolę w czasie lizy komórek w kontakcie ze swoistymi komponentami FBS. Nasze badania potwierdziły unikalną zdolność *C. neoformans* i *C. gattii* do tworzenia komórek olbrzymich i dostarczyły nowych informacji na temat natury tego niezwykłego procesu transformacji morfologicznej.

1. Dambuja IM., et al. The *Cryptococcus neoformans* Titan cell is an inducible and regulated morphotype underlying pathogenesis; PLoS Pathog. 2018, 14(5):e1006978, doi.org/10.1371/journal.ppat.1006978.
2. Hommel B., et al. Titan cells formation in *Cryptococcus neoformans* is finely tuned by environmental conditions and modulated by positive and negative genetic regulators; PLoS Pathog. 2018, 14(5):e1006982, doi:10.1371/journal.ppat.1006982.
3. Trevijano-Contador N., et al. *Cryptococcus neoformans* can form titan-like cells in vitro in response to multiple signals; PLoS Pathog. 2018, 14(5):e1007007, doi.org/10.1371/journal.ppat.1007007.
4. Zhou X. and Ballou E.R. The *Cryptococcus neoformans* Titan Cell: From In Vivo Phenomenon to In Vitro Model; Curr. Clin. Micro. Rpt. 2018, 5:252.,doi.org/10.1007/s40588-018-0107-9

Cryptococcus species complex stands out among yeast-like fungi by the ability to form Titan cells in vitro

Klaudyna Spychala¹, Rodney J. Colon-Reyes², Lukasz Kozubowski², Mariusz Dyla¹

¹Department of Mycology and Genetics, Institute of Genetics and Microbiology, University of Wrocław, Wrocław, Poland

²Department of Genetics and Biochemistry, Clemson University, Clemson, SC, United States

299130@uwr.edu.pl

Key words: *Cryptococcus*, Titan cells, serum

Cryptococcus species complex is unique for the number of virulence factors that allowed these species to evolve into human pathogens. One example is a unique morphological transition to form enlarged Titan cells that escape phagocytosis by host immune cells. Titans, 2-20 times larger than normal cells, generate haploid or aneuploid daughter cells that exhibit resistance to physico-chemical factors and antifungal drugs, which further contributes to infection [1,2]. It remains unclear whether non-*C. neoformans*/non-*C. gattii* basidiomycetous species are capable of titanization. Based on three recently published [2-4] *in vitro* protocols, we performed a survey of several basidiomycetous and ascomycetous yeasts and propose that titanization is unique to *C. neoformans* and *C. gattii*. In addition, we find that under *in vitro* titanization conditions, fetal bovine serum possesses an activity that can inhibit/kill *C. neoformans*/*C. gattii* cells if incubation is performed in the absence of 5% CO₂. Furthermore, lowering of pH or addition of an antioxidant, rescues growth in the presence of FBS and allows titanization even in the absence of 5% CO₂. We also find that the inhibitory/killing activity of FBS requires low cell density. Moreover, our results involving acapsular mutants suggest that capsule plays a role in FBS-mediated killing. Our data implicate titanization as a unique feature of *C. neoformans* and *C. gattii* and provide novel insights into the nature of this unusual morphological transition.

1. Dambuza IM., et al. The *Cryptococcus neoformans* Titan cell is an inducible and regulated morphotype underlying pathogenesis; PLoS Pathog. 2018, 14(5):e1006978, doi.org/10.1371/journal.ppat.1006978.
2. Hommel B., et al. Titan cells formation in *Cryptococcus neoformans* is finely tuned by environmental conditions and modulated by positive and negative genetic regulators; PLoS Pathog. 2018, 14(5):e1006982, doi:10.1371/journal.ppat.1006982.
3. Trevijano-Contador N., et al. *Cryptococcus neoformans* can form titan-like cells in vitro in response to multiple signals; PLoS Pathog. 2018, 14(5):e1007007, doi.org/10.1371/journal.ppat.1007007.
4. Zhou X. and Ballou E.R. The *Cryptococcus neoformans* Titan Cell: From In Vivo Phenomenon to In Vitro Model; Curr. Clin. Micro. Rpt. 2018, 5:252., doi.org/10.1007/s40588-018-0107-9

Współwystępowanie gatunków z rodzaju *Malassezia* jako czynników etiologicznych łupieżu pstrego oraz komponentów zdrowej skóry człowieka

Wioletta Jarki¹, Lukasz Kozubowski², Mariusz Dyląg¹

¹*Zakład Mykologii i Genetyki, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polska*

²*Department of Genetics and Biochemistry, Clemson University, Clemson, Karolina Południowa, Stany Zjednoczone*

301445@uwr.edu.pl

Słowa kluczowe: *Malassezia*, łupież pstry, mykobiom skóry

Wpływ mykobiomu skóry na jej zdrowie i kondycję jest znaczący, chociaż wciąż słabo opisany. W szczególności rola różnych gatunków grzybów z rodzaju *Malassezia* w powstawaniu hypo- i hyperpigmentowanych zmian skórnych w łupieżu pстрыm (PV) nie została dobrze wyjaśniona. Celem przeprowadzonych badań była analiza przypadku klinicznego PV będącego wynikiem dysbiozy i przejawiającego się dwoma odmiennymi typami zmian skórnych. Istotne było zidentyfikowanie czynników etiologicznych obu rodzajów zmian skórnych, a także innych lipidozależnych grzybów obecnych na skórze niezainfekowanej. Identyfikację gatunkową przeprowadzono z wykorzystaniem narzędzi biologii molekularnej oraz w oparciu o konwencjonalne procedury mykologiczne [1]. Wrażliwość na leki przeciwgrzybicze [2] określono zgodnie z opracowaną przez Clinical & Laboratory Standards Institute [3] metodą referencyjną (M27-A3). Z hiper- i hipopigmentowanych zmian skórnych wyizolowano odpowiednio *Malassezia sympodialis* i *Malassezia furfur*. Ze zdrowych obszarów skóry pacjenta i jego żony uzyskiwano wyłącznie *Malassezia restricta* i *M. sympodialis*. Wyizolowane szczepy z rodzaju *Malassezia* przejawiały wysoką wrażliwość na badane leki przeciwgrzybicze. Wyjątek stanowił szczep *M. furfur* wykazujący wyraźnie mniejszą wrażliwość na flukonazol. Przeprowadzone testy wrażliwości zdecydowały o włączeniu miejscowej terapii cyklopiroksem i terbinafiną. Dla obu tych związków stosowanych jednocześnie wykazano *in vitro* efekt hypersynergistyczny. Przeprowadzone badania, w kontekście poznawczym pozwalają lepiej zrozumieć etiologię przypadków PV cechujących się współwystępowaniem hypo- i hyperpigmentowanych zmian skórnych. W analizowanym przypadku klinicznym terapia miejscowa była wystarczająca i skuteczna, jednocześnie pozwalając na utrzymanie fizjologicznego mykobiomu skóry. W kontekście mykobiomu przeprowadzone analizy sugerują, że granica między procesem patologicznym związanym z nadmierną proliferacją komórek *Malassezia* sp. a stanem fizjologicznym związanym z komensalnym bytowaniem tych grzybów na skórze jest zatarta.

1. Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 1 ed., Washington, American Society for Microbiology, 1992.
2. Hindler, JF., & Munro, S. Evaluating antimicrobial susceptibility test. Clinical microbiology procedures handbook. 3rd ed: 1-5 (2010).
3. Rojas FD., et al. Med Mycol. 2014;52:641-646; 9CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast; Approved Standard, 3rd Edn. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.

Coexistence of *Malassezia* spp. as etiological factors of pityriasis versicolor and components of healthy human skin mycobiome

Wioletta Jarki¹, Lukasz Kozubowski², Mariusz Dyląg¹

¹Department of Mycology and Genetics, Institute of Genetics and Microbiology, University of Wrocław, Wrocław, Poland

²Department of Genetics and Biochemistry, Clemson University, Clemson, SC, United States

301445@uw.edu.pl

Key words: *Malassezia*, pityriasis versicolor, skin mycobiome

The impact of skin mycobiome on skin health is significant yet poorly characterized. In particular the contribution of various *Malassezia* species to pityriasis versicolor (PV) manifested by hyper- and/or hypopigmented skin lesions remains ill defined. The aim of this study was to perform comprehensive analysis of a case of *Malassezia* spp. infection resulting from dysbiosis and manifested by hyper- and hypopigmented skin lesions. It was important to identify the etiological factors of the two types of skin lesions, as well as other lipid-dependent components of the healthy skin mycobiome. Species identification was performed based on conventional and molecular mycological procedures [1]. Susceptibility toward antifungals [2] were determined based on modified Clinical & Laboratory Standards Institute [3] reference method (M27-A3). *Malassezia sympodialis* and *M. furfur* were isolated from the patient's hyper- and hypopigmented skin lesions, respectively. *Malassezia restricta* and *M. sympodialis* were isolated from healthy skin regions of the patient and his wife, considered as healthy control. Antimycogram revealed high activity of tested drugs against isolated *Malassezia* strains, except for a weak activity of fluconazole toward the *M. furfur* isolate. Based on susceptibility tests local therapy with ciclopirox and terbinafine, characterized by complementary mechanisms of action, was included. This study shed more light on etiology of PV manifested in our patient by hyper- and hypopigmentation. In the presented case localized topical treatment was sufficient and successful and has allowed maintaining the physiological mycobiome. Presented results suggest that the borderline between pathological outgrowth of *Malassezia* and commensal proliferation is blurred.

1. Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 1 ed., Washington, American Society for Microbiology, 1992.
2. Hindler, JF., & Munro, S. Evaluating antimicrobial susceptibility test. Clinical microbiology procedures handbook. 3rd ed: 1-5 (2010).
3. Rojas FD., et al. Med Mycol. 2014;52:641-646; 9CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast; Approved Standard, 3rd Edn. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.

Pleomorfizm komórkowy i zmiany w profilu enzymatycznym wybranych szczepów *Candida albicans* w interakcji z *Escherichia coli*

Szymon K. Lis¹, Katarzyna Góralska¹, Ewa Brzezińska-Lasota²

¹ Zakład Biologii i Parazytologii, Katedra Biologii i Mikrobiologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

² Zakład Biomedycyny i Genetyki, Katedra Biologii i Mikrobiologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

szymon.sl.lis@gmail.com

Słowa kluczowe: *Candida albicans*, *Escherichia coli*, profil enzymatyczny, pleomorfizm komórkowy, interakcja

Candida albicans należy do gatunków będących częstymi komensalami jak i patogenami człowieka [1-3]. Czynniki wirulencji *C. albicans* to między innymi pleomorfizm komórkowy oraz produkcja enzymów hydrolitycznych [2-3]. Niezwykle istotne w zapobieganiu konwersji *C. albicans* z formy komensalnej w patogeniczną, są jego interakcje z naturalną mikrobiotą [4].

Celem pracy była analiza zmian w strukturze morfologicznej i profilu enzymatycznym *C. albicans* w eksperymentalnych hodowlach mieszanych z *Escherichia coli*.

Do badań wybrano dziesięć szczepów *C. albicans* oraz szczep *E. coli* pochodzące z kolekcji zakładu Biologii i Parazytologii (Katedra Biologii i Mikrobiologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi). Przygotowano hodowle jednogatunkowe oraz mieszane, które inkubowano przez 24 godziny w 37 °C. Ocenę mikroskopową przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania DeltaPix. Profil enzymatyczny określono za pomocą półościowego testu API ZYM (bioMérieux). Oceniono aktywność 19 enzymów. Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu Statistica 13.2 (StatSoft).

Po 24 godzinach inkubacji średnia liczba komórek grzybów zmniejszyła się z $485,3 \pm 132,1$ do $24,4 \pm 5,4$ komórek w polu widzenia (pow. 400x). Jednocześnie 93,7% komórek wykazywało znaczną elongację i wzrost grubości ścian komórkowych. Zaobserwowano istotny statystycznie spadek aktywności aryamidazy leucynowej ($p=0,008$), aryamidazy cystynowej ($p=0,046$), kwaśnej fosfatazy ($p=0,027$), naftol-AS-BI-fosfohydrolazy ($p=0,046$) i N-acetylo- β -glukozaminidazy ($p=0,004$) między hodowlami jednogatunkowymi i mieszanymi.

E. coli może wpływać na komórki *C. albicans*, prowadząc do zmian w morfologii oraz spadku aktywności enzymów odpowiedzialnych za wirulencję. Przeprowadzone badania sugerują, że *E. coli* może hamować rozwój zakażeń wywołanych przez *C. albicans* [5].

1. Hani, U., Shivakumar, H., Vaghela, R., M. Osmani, R. & Shrivastava, A. Candidiasis: A Fungal Infection- Current Challenges and Progress in Prevention and Treatment. Infect. Disord. - Drug Targets 15, 42–52 (2015).
2. Kadosh, D. Control of *Candida albicans* morphology and pathogenicity by post-transcriptional mechanisms. Cellular and Molecular Life Sciences vol. 73 (2016).
3. Mayer, F. L., Wilson, D. & Hube, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Virulence vol. 4 119–128 (2013).
4. Shirtliff, M. E., Peters, B. M. & Jabra-Rizk, M. A. Cross-kingdom interactions: *Candida albicans* and bacteria. FEMS Microbiology Letters vol. 299 (2009).
5. Cabral, D. J., Penumutthu, S., Norris, C., Morones-Ramirez, J. R. & Belenky, P. Microbial competition between *Escherichia coli* and *Candida albicans* reveals a soluble fungicidal factor. Microb. Cell 5, (2018).

Cell pleomorphism and enzymatic profile changes of selected *Candida albicans* strains in interaction with *Escherichia coli*

Szymon K. Lis¹, Katarzyna Górska¹, Ewa Brzezińska-Lasota²

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

² Department of Biomedicine and Genetics, Chair of Biology and Medical Microbiology Medical University of Lodz

szymon.sl.lis@gmail.com

Key words: *Candida albicans*, *Escherichia coli*, enzymatic profile, cell pleomorphism, interaction

Candida albicans is a common human commensal and pathogen [1-3]. The virulence factors of *C. albicans* include among others pleomorphism and the production of hydrolytic enzymes [2-3]. Interaction between microbiota and *C. albicans* are essential to prevent the conversion of the commensal into a hazardous pathogen [4].

The aim of the study was to analyze the changes in the morphological structure and enzymatic profile of *C. albicans* in experimentally established cultures mixed with *Escherichia coli*.

Ten strains of *C. albicans* and a strain of *E. coli* were selected for the study from the collection of the department of Biology and Parasitology (Chair of Biology and Medical Microbiology, Medical University of Lodz). Single-species and mixed cultures were prepared and incubated for 24h at 37°C. The microscopic evaluation was performed using DeltaPix software. The enzyme profile was determined using a semi-quantitative API ZYM test (bioMérieux). Activity of 19 enzymes was assessed. Statistical analysis was performed using the Statistica 13.2 software (StatSoft).

Mean number of fungal cells decreased from 485.3 ± 132.1 cells to 24.4 ± 5.4 cells in the field of view (mag. 400x) after 24h of incubation. Also, 93.7% of cells showed significant cell elongation and thickening of the cell walls after incubation. Statistically significant decrease in the concentrations of leucine arylamidase ($p=0.008$), cystine arylamidase ($p=0.046$), acid phosphatase ($p=0.027$), naphthol-AS-BI-phosphohydrolase ($p=0.046$) and N-acetyl- β -glucosaminidase ($p=0.004$) between single and mixed cultures was observed.

E. coli affects *C. albicans*, leading to changes in cell morphology and a decrease in the concentration and activity of enzymes responsible for virulence. The conducted study suggests that *E. coli* may inhibit the development of *C. albicans* infections [5].

1. Hani, U., Shivakumar, H., Vaghela, R., M. Osmani, R. & Shrivastava, A. Candidiasis: A Fungal Infection- Current Challenges and Progress in Prevention and Treatment. Infect. Disord. - Drug Targets 15, 42–52 (2015).
2. Kadosh, D. Control of *Candida albicans* morphology and pathogenicity by post-transcriptional mechanisms. Cellular and Molecular Life Sciences vol. 73 (2016).
3. Mayer, F. L., Wilson, D. & Hube, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Virulence vol. 4 119–128 (2013).
4. Shirliff, M. E., Peters, B. M. & Jabra-Rizk, M. A. Cross-kingdom interactions: *Candida albicans* and bacteria. FEMS Microbiology Letters vol. 299 (2009).
5. Cabral, D. J., Penumutthu, S., Norris, C., Morones-Ramirez, J. R. & Belenky, P. Microbial competition between *Escherichia coli* and *Candida albicans* reveals a soluble fungicidal factor. Microb. Cell 5, (2018).



POLSKIE TOWARZYSTWO
MYKOLOGICZNE



Grzyby w interakcjach

Interakcje grzybów i fok szarych *Halichoerus grypus* (Fabricius, 1791)

Dorota Wiktorowicz, Julia Pawłowska

Instytut Biologii Ewolucyjnej, Centrum Nauk Biologiczno Chemicznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

d.wiktorowicz@student.uw.edu.pl

słowa kluczowe: grzyby, grzybice, *Halichoerus grypus*, mykobiota

Wiedza o mykobiozie ssaków morskich jest bardzo ograniczona. Większość informacji pochodzi z badań pośmiertnych dzikich osobników, lub z badań weterynaryjnych osobników trzymanyh na stałe w niewoli, w ogrodach zoologicznych i parkach rozrywki. Tymczasem grzyby występujące na powłokach ciała zwierząt są szczególnie istotne, jako że to one są najczęstszym powodem występujących u nich chorób grzybiczych. Znajomość potencjalnych patogenów umożliwia lepszą prewencję, dostosowanie badań diagnostycznych, a także szybsze wdrożenie leczenia. Jest to bardzo istotne zwłaszcza dla ośrodków wyspecjalizowanych w hodowli i rehabilitacji fok.

Celem tej pracy jest zebranie i omówienie obecnych w literaturze przypadków interakcji grzybów i fok szarych *Halichoerus grypus* (Fabricius, 1791), w odniesieniu do innego gatunku fok występujących w Bałtyku – foki pospolitej *Phoca vitulina* (L.).

Zgodnie z przewidywaniami, powszechnie spotykane u innych zwierząt infekcje, powodowane przez przedstawicieli rodzajów: *Candida*, *Fusarium*, *Malassezia*, opisywano również u przedstawicieli *H. grypus* [2,3,4,6]. Również rzadko występujące zakażenia wywołane przez *Rhizomucor pusillus* i *Rhizopus microsporus* wystąpiły u fok szarych [1,6].

Przedstawiono również plan eksperymentu, mającego na celu izolację i identyfikację grzybów występujących na skórze i sierści fok szarych, który będzie się opierał na badaniu próbek sierści i piasku, zastosowaniu techniki przynęty na włosy, oraz hodowli na pożywce Sabouraud z dodatkiem chloramfenikolu, a następnie na genetycznej identyfikacji wyizolowanych gatunków.

1. Barnett J., Riley P., Cooper T., Linton C., Wessels M., 2014. Mycotic encephalitis in a grey seal (*Halichoerus grypus*) pup associated with *Rhizomucor pusillus* infection. *Veterinary Record Case Reports* 2(1): e000115.
2. Dunn J. L., Buck J. D., Spotte S., 1984. Candidiasis in captive pinnipeds. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 185(11): 1328-1330.
3. Montali R. J., Bush M., Strandberg J. D., Janssen D. L., Boness D. J., Whitla J. C., 1981. Cyclic dermatitis associated with *Fusarium sp* infection in pinnipeds. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 179(11): 1198-1202.
4. O'Donnell K., Sutton D. A., Wiederhold N., Robert V. A., Crous P. W., Geiser D. M., 2016. Veterinary Fusarioses within the United States. *Journal of clinical microbiology*, 54(11): 2813–2819.
5. Pollock C. G., Rohrbach B., Ramsay E. C., 2000. Fungal dermatitis in captive. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 31(3): 374-378.
6. Sosa M., Gamble K. C., Delaski K., Righton A., 2013. Clinical challenge: systemic *Rhizopus microsporus* infection with renal cavitation in a grey seal (*Halichoerus grypus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 44(4): 1134-1138.

Interactions between fungi and grey seals *Halichoerus grypus* (Fabricius, 1791)

Dorota Wiktorowicz, Julia Pawłowska

Institute of Evolutionary Biology, Biological and Chemical Research Centre, Faculty of Biology, University of Warsaw

d.wiktorowicz@student.uw.edu.pl

Key words: fungi, *Halichoerus grypus*, mycobiota, mycoses

There is little knowledge about the mycobiota of marine mammals. Most of the information comes from post-mortem examinations of wild individuals, or from veterinary studies of individuals kept permanently in captivity e.g. in zoos or sea amusement parks. Meanwhile, fungi found on the integument of animals are particularly important as they are the most common cause of fungal diseases. Knowledge of potential pathogens enables better prevention, adapting diagnostic tests, and faster implementation of the treatment. It is of great importance especially for institutions specialized in breeding and rehabilitation of the seals.

The main aim of this study was to collect and analyze the data from the literature on fungi present on grey seals *Halichoerus grypus* (Fabricius, 1791) and compare our findings with previously studied mycobiota of another Baltic seal – Harbor seal *Phoca vitulina* (L.).

As expected, most common animal fungal infections caused by the *Candida*, *Fusarium*, and *Malassezia* genera, have been found in individuals of a grey seal [2,3,4,6]. Rare infections caused by *Rhizomucor pusillus* and *Rhizopus microsporus* also occurred in grey seals [1,6].

We also present a plan for an experiment that aims to provide isolated and identified fungi from grey seals' skin and hair samples. The experiment is based on the use of a hair baiting technique and cultivation on Sabouraud agar with chloramphenicol, followed by genetic identification of isolated species.

1. Barnett J., Riley P., Cooper T., Linton C., Wessels M., 2014. Mycotic encephalitis in a grey seal (*Halichoerus grypus*) pup associated with *Rhizomucor pusillus* infection. *Veterinary Record Case Reports* 2(1): e000115.
2. Dunn J. L., Buck J. D., Spotte S., 1984. Candidiasis in captive pinnipeds. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 185(11): 1328-1330.
3. Montali R. J., Bush M., Strandberg J. D., Janssen D. L., Boness D. J., Whitla J. C., 1981. Cyclic dermatitis associated with *Fusarium sp* infection in pinnipeds. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 179(11): 1198-1202.
4. O'Donnell K., Sutton D. A., Wiederhold N., Robert V. A., Crous P. W., Geiser D. M., 2016. Veterinary Fusarioses within the United States. *Journal of clinical microbiology*, 54(11): 2813–2819.
5. Pollock C. G., Rohrbach B., Ramsay E. C., 2000. Fungal dermatitis in captive. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 31(3): 374-378.
6. Sosa M., Gamble K. C., Delaski K., Righton A., 2013. Clinical challenge: systemic *Rhizopus microsporus* infection with renal cavitation in a grey seal (*Halichoerus grypus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 44(4): 1134-1138.

Ukryta różnorodność - mykobiota grudek policzkowych mrówki ćmawej (*Formica polyctena*)

Igor Siedlecki¹, Michał Kochanowski¹, Maria Majchrowska², Zuzanna Błocka², Marta Wrzosek¹

¹Ogród Botaniczny, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

²Instytut Biologii Ewolucyjnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

igor.siedlecki@uw.edu.pl

Słowa kluczowe: rude mrówki leśne, *Entomortierella*, *Penicillium*, Trichomeriaceae, interakcje mrówki-grzyby

Kieszonka policzkowa jest częścią przewodu pokarmowego wielu gatunków mrówek. Jest to workowato-rozrośnięta przednia część gardzieli zlokalizowana w głowie. W przypadku mrówczych robotnic, uważa się, że organ ten pełni funkcję swoistego filtra, w którym gromadzą się, pod postacią grudek, stałe cząsteczki pobierane podczas czyszczenia się, czy zbierania pokarmu. W grudkach tych często znajdują się grzyby, w postaci zarodników i/lub strzępek. W przypadku niektórych gatunków mrówek, kieszonki młodych królowych służą do bezpiecznego przenoszenia mutualistycznych grzybów do nowo zakładanych kolonii. Większość badań dotyczących roli i zawartości kieszzonek skupiało się na tropikalnych mrówkach grzybiarkach. Równocześnie, zawartość kieszzonek wielu eurazjatyckich gatunków mrówek, w tym pospolitych w lasach strefy klimatu umiarkowanego rudych mrówek leśnych, nie została jeszcze nigdy opisana. W naszym badaniu postaramy się scharakteryzować mykobiotę kieszzonek mrówki ćmawej (*Formica polyctena*). Takie opracowanie, nie dość, że będzie pierwszym dla przedstawiciela rudych mrówek leśnych, to jeszcze może pomóc w lepszym zrozumieniu interakcji grzyby-mrówki w strefie klimatu umiarkowanego. W naszym badaniu wyizolowaliśmy 45 grudek policzkowych z mrówek zebranych w centralnej Polsce. W celu uzyskania wzrostu dla grzybów mikroskopowych z grudek, zastosowaliśmy metody szalkowe (podłoże Sabouraud Dextrose Agar), po czym zidentyfikowaliśmy 1887 wyrośniętych kolonii bazując na ich morfologii. Szczepy reprezentujące 191 wyróżnionych morfotypów (38 rodzajów) zostały wyizolowane do czystych kultur i zidentyfikowane molekularnie, bazując na uzyskanych sekwencjach ITS rDNA. Nasze wyniki sugerują, że powszechnie występującymi w grudkach policzkowych *Formica polyctena* są grzyby należące do rodzajów *Cladosporium*, *Penicillium* i *Talaromyces*. Równocześnie, *Alternaria* i *Aspergillus*, powszechnie występujące w ściółce leśnej, były izolowane z grudek bardzo rzadko. To sugeruje, że środowisko życia mrówek, bogate w antyseptyczne żywice i kwas mrówkowy, może być nieprzyjazne do rozwoju dla przedstawicieli tych taksonów. Finalnie, wyizolowaliśmy osiem szczepów, dla których sekwencja ITS ma podobieństwo poniżej 97% do jakiegokolwiek innej sekwencji dla opisanych gatunków grzybów, dostępnej w bazie danych GenBank. Cztery uzyskane szczepy reprezentują taksony: *Entomortierella* i Trichomeriaceae, które znane są z częstej izolacji [1] albo interakcji mutualistycznej z mrówkami [2]. Pogłębiona analiza pozwoli nam określić, czy szczepy te reprezentują nowe, nieopisane jeszcze, gatunki.

1. Clark, D.W. Fungi Associated with the Infrabuccal Pockets of *Camponotus pennsylvanicus* and Other Formicine Ants; MSc thesis, University of Toronto, Department of Botany, Canada, 2002; ISBN 0612738035.
2. Quan, Y.; Muggia, L.; Moreno, L.F.; Wang, M.; Al-Hatmi, A.M.; da Silva Menezes, N.; Shi, D.; Deng, S.; Ahmed, S.; Hyde, K.D. A re-evaluation of the Chaetothyriales using criteria of comparative biology. *Fungal Diversity* 2020, 103, 47–85.

Hidden diversity - mycobiota of *Formica polyctena* ants' infrabuccal pellets

Igor Siedlecki¹, Michał Kochanowski¹, Maria Majchrowska², Zuzanna Blocka², Marta Wrzosek¹

¹Botanic Garden, Faculty of Biology, University of Warsaw

²Institute of Evolutionary Biology, Faculty of Biology, University of Warsaw

igor.siedlecki@uw.edu.pl

Key words: red wood ants, *Entomortierella*, *Penicillium*, Trichomeriaceae, ant-fungal interactions

The infrabuccal pocket is a part of a digestive tract of many ant species. It is a ventral sac-like outgrowth of the hypopharynx, located in an ant's head. In case of ants' worker caste, this organ is believed to work as a filtering device - the particles collected while eating and grooming remain inside and form a pellet. Both fungal hyphae and spores are often present in the pellets. In some ant species, mutualistic fungi are safely transported to a new colony in infrabuccal pockets of young queens. Most studies about the role and the content of infrabuccal pockets have been made on tropical, leaf-cutter ants. At the same time, the contents of such pockets of many Eurasian ant species, including common and often dominant in temperate forests red wood ants, have never been described. In our study, we have tried to characterise mycobiota of infrabuccal pockets of *Formica polyctena* ants. Such a description will not only be the first for a representative of the red wood ants, but could also help to better understand ant-fungal interactions in a temperate climate. In the study, we isolated 45 pellets from ants collected in central Poland. We employed a culture-based method (Sabouraud Dextrose Agar medium) and identified 1887 fungal cultures based on their morphology. Fungal strains representing 191 distinguished morphotypes (38 genera), were isolated into axenic cultures and identified molecularly based on the ITS marker, the rDNA barcode. Our results suggest that *Cladosporium*, *Penicillium* and *Talaromyces* are commonly present in *Formica polyctena* infrabuccal pellets. At the same time, commonly present in a forest litter, *Alternaria* and *Aspergillus* were isolated from these pellets very rarely, which suggests that the ant-made environment, rich in antiseptic resin and formic acid, may be unfavorable for them to grow. Finally, we isolated eight strains whose ITS sequence has an identity lower than 97% to any present in the GenBank database sequence of described fungal species. Out of those, four strains represent fungal taxa: *Entomortierella* and Trichomeriaceae, which are known to be either commonly isolated [1] or mutualistic with ants [2]. A more thorough analysis will allow us to determine if those strains represent new species.

1. Clark, D.W. Fungi Associated with the Infrabuccal Pockets of *Camponotus Pennsylvanicus* and Other Formicine Ants; MSc thesis, University of Toronto, Department of Botany, Canada, 2002; ISBN 0612738035.
2. Quan, Y.; Muggia, L.; Moreno, L.F.; Wang, M.; Al-Hatmi, A.M.; da Silva Menezes, N.; Shi, D.; Deng, S.; Ahmed, S.; Hyde, K.D. A re-evaluation of the Chaetothyriales using criteria of comparative biology. *Fungal Diversity* 2020, 103, 47–85.

Czy kopiec mrówek może być twierdzą dla grzybów? Charakterystyka Mucoromycota w mrowisku *Formica polyctena*

Michał Kochanowski, Igor Siedlecki, Marta Wrzosek

Ogród Botaniczny, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Al. Ujazdowskie 4, 00–478 Warszawa, Polska

mj.kochanowski@student.uw.edu.pl

Słowa kluczowe: lasy strefy umiarkowanej, rude mrówki leśne, *Entomortierella*, interakcje mrówki-grzyby

Czerwone mrówki leśne są kluczowe dla funkcjonowania i regulowania procesów zachodzących w ekosystemach lasów strefy umiarkowanej. Budują one duże gniazda, w formie kopców, w których kumuluje się materia organiczna i substancje odżywcze. Materiał gniazdowy zawiera żywicę i jest spryskiwany kwasem mrówkowym. Obie te substancje wykazują właściwości antyseptyczne. Charakterystyka kopca sprawia, że jest on specyficznym mikrośrodowiskiem, które może być korzystne dla rozwoju niektórych grzybów, a zarazem problematyczne dla innych. Wielu przedstawicieli Mucoromycota powszechnie występuje w leśnej ściółce. Jednakże, ich występowanie w mrówczych kopcach nie jest jeszcze dobrze przebadane. Ostatnie publikacje donoszą, że rodzaje *Entomortierella* oraz *Umbelopsis* są związane z kopcami rudych mrówek leśnych [1,2]. W mojej pracy licencjackiej postaram się opisać bogactwo i różnorodność gatunkową oraz obfitość Mucoromycota (ze szczególnym uwzględnieniem *Entomortierella*) w mrowisku *Formica polyctena* oraz porównać je z otaczającą ją ściółką. To badanie, może pomóc w lepszym zrozumieniu interakcji symbiotycznych rudych mrówek leśnych i grzybów.

Materiał do moich badań został pobrany z dwóch kopców *Formica polyctena* zlokalizowanych w borach sosnowych w województwie mazowieckim. W związku z sezonową zmiennością aktywności grzybów i mrówek postanowiliśmy dokonać poboru dwa razy w ciągu roku: w sierpniu i październiku. Próbkę została pobrana z powierzchni kopca, z jego wnętrza i z otaczającej go ściółki. Badanie opiera się na izolowaniu kolonii grzybów przy pomocy metod szalkowych. Kolonie grzybów zostały policzone i przypisane do morfotypów na podstawie ich cech makro- i mikroskopowych. Każda kolonia należąca do rodziny Mortierellaceae i kolonie reprezentujące wyróżnione morfotypy zostały wyizolowane do czystych kultur. W dalszej części badania zostanie przeprowadzona identyfikacja molekularna na podstawie sekwencji ITS rDNA.

W badaniu udało mi się przeanalizować morfologię 328 kultur należących do Mucoromycota, które zostały przypisane do 22 morfotypów. Wstępne wyniki sugerują, że przedstawiciele rodzaju *Absidia*, są częściej izolowane z kopców, natomiast *Rhizopus* są raczej obecne w otaczającej je ściółce. Wyniki te sugerują, że środowisko wytworzone przez mrówki jest odpowiednie tylko dla niektórych rodzajów Mucoromycota. Po otrzymaniu wyników molekularnej części moich badań, postaram się odpowiedzieć na pytanie czy przedstawiciele *Entomortierella* są częściej spotykani w kopcach *F. polyctena* niż w ich otoczeniu. Odpowiedź na to pytanie może być podstawą do dalszych badań w tym kierunku.

1. Siedlecki I., Gorczak M., Okraśńska A., Wrzosek M., Chance or Necessity—The Fungi Co-Occurring with *Formica polyctena* Ants, *Insects* **2021**, 12(3), 204
2. Lindström, S.; Timonen, S.; Sundström, L.; Johansson, H., Ants Reign over a Distinct Microbiome in Forest Soil. *Soil Biol. Biochem.* **2019**, 139, 107529.

Is an ant mound a fortress for some fungi? Mucoromycota community of the *Formica polyctena* nest

Michał Kochanowski, Igor Siedlecki, Marta Wrzosek

Botanic Garden, Faculty of Biology, University of Warsaw, Al. Ujazdowskie 4, 00–478 Warsaw, Poland

mj.kochanowski@student.uw.edu.pl

Key words: temperate forests, red wood ants, *Entomortierella*, ant-fungal interactions

Red wood ants are crucial for driving ecosystem processes and regulate functions of temperate forests. They build large nest mounds where organic matter and nutrients are accumulated. Additionally, nest material consists of resin and is sprayed with formic acid, substances that both have high antiseptic properties. All these features simultaneously develop a unique microenvironment, which could be beneficial for some and problematic for other fungal species. Many Mucoromycota species are known to be commonly present in coniferous forest litter. However, their presence in ant mounds is yet not well-studied. Recent publications link *Entomortierella* and *Umbelopsis* with the red wood ant's environment [1,2]. In my bachelor thesis, I will attempt to describe and compare the abundance, diversity, and richness of Mucoromycota (with the emphasis on Mortierellaceae) in *Formica polyctena* mounds and the surrounding soil. This study will help to better understand symbiotic interactions between red wood ants and fungi.

Material for my research was collected from two mounds of *Formica polyctena* located in pine forests in Mazovia Voivodeship. Because fungal communities may depend on conditions changing seasonally, we decided to collect material twice, in August and November. Samples were collected from the surface and the inside of the mound, together with the surrounding litter. In the study, a culture-based method was employed. Grown fungal colonies were counted and identified based on their morphological features. Each strain belonging to Mortierellaceae family and strains of other Mucoromycota representing distinguished morphotypes were isolated into axenic cultures. Molecular identification of isolates will be performed in the future, based on the ITS, the rDNA barcode.

In the study, I have analyzed morphology of 328 cultures belonging to Mucoromycota, which were assigned to 22 morphotypes. Preliminary results suggest that *Absidia* representatives were more commonly isolated from the mounds, while *Rhizopus* were present rather in the surrounding litter. This suggests that an ant-made environment is suitable only for some Mucoromycota genera. Finally, with the results of the molecular part of my studies, I will try to answer the question if representatives of *Entomortierella* are more common in the *F. polyctena* mounds than in its surroundings. An answer to that question can stimulate further research in that field.

1. Siedlecki I., Gorczak M., Okraśńska A., Wrzosek M., Chance or Necessity—The Fungi Co-Occurring with *Formica polyctena* Ants, *Insects* **2021**, 12(3), 204
2. Lindström, S.; Timonen, S.; Sundström, L.; Johansson, H., Ants Reign over a Distinct Microbiome in Forest Soil. *Soil Biol. Biochem.* **2019**, 139, 107529.

Zdolności obronne grzybni wobec nicieni

Paweł Kudrys, Ewa Moliszewska, Małgorzata Nabrdalik

Instytut Inżynierii Środowiska i Biotechnologii, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, Uniwersytet Opolski

pawel.kudrys@uni.opole.pl

Słowa kluczowe: nicienie, bocznik, toksyny, nicieniobójczość

W środowisku naturalnym grzybnia są narażone na kontakt z pozostałymi organizmami zamieszkującymi te same nisze ekologiczne. To sprawia, że są one narażone także m. in. na organizmy mykofagiczne. Pośród sposobów obronnych grzybni skierowanych przeciw nicieniom można wyróżnić: zdolność do wytwarzania wyrafinowanych pułapek, zdolność do pasożytowania oraz możliwość wytwarzania toksyn paraliżujących nicienie [1, 2, 3]. Badania wskazują także na oddziaływania za pomocą enzymów grzybowych na tkanki nicieni. Takie właściwości opisano dla ponad 200 różnych gatunków grzybów, np. należących do rodzajów *Arthrobotrys*, *Coprinus*, *Harposporium*, *Climacodon*, *Lentinus*, *Pleurotus* i innych [1, 2, 4]. Zdolności, które są przydatne grzybom w naturze mogą znaleźć zastosowania aplikacyjne, np. w celu ograniczania występowania populacji nicieni pasożytniczych. Liczne badania wskazują, że jest to dobry kierunek ochrony przeciw nicieniom, choć jak do tej pory brak spektakularnych zastosowań praktycznych.

Bocznik (*Pleurotus*) jest rodzajem popularnych grzybów jadalnych, szeroko rozpowszechnionych na całym świecie. Najpowszechniej uprawiany jest bocznik ostrygowaty (*P. ostreatus*). Naturalnie wytwarza on owocniki w raczej niskich temperaturach, jego typowy okres owocowania w warunkach Polski to jest jesień do początków zimy (IX-XII). Jednak w uprawie występują różne jego odmiany przystosowane do owocowania w różnych zakresach temperatur, co umożliwia jego produkcję w zasadzie przez cały rok. W hodowli bocznika brane są pod uwagę także inne jego właściwości, jak np. brak zdolności do zarodnikowania, co znacząco przedłuża ich trwałość handlową i bezpieczeństwo użytkowania. Boczniki znane są także ze swoich szerokich właściwości prozdrowotnych [3, 4, 5]. Jednak ich możliwości ochronne przeciw nicieniom pasożytującym na roślinach i zwierzętach nie zostały praktycznie wykorzystane, pomimo dość dobrej wiedzy o mechanizmach ich działania nicieniobójczego. U podstaw aktywności nicieniobójczej bocznika ostrygowatego leży zdolność do wytwarzania toksyny – kwasu trans-2-decenodiowego, pojawiającego się w postaci kropli na specyficznych wypustkach wyrastających na strzępkach [4, 5]. Jak do tej pory zróżnicowania osobnicze możliwości wytwarzania tej substancji przez grzybnie bocznika nie zostały dokładnie przebadane. Powyższe streszczenie stanowi przegląd zdolności nicieniobójczych grzybni ze szczególnym uwzględnieniem bocznika ostrygowatego.

1. Bachar Almaghrabi et. all, Arabidopsis thionin - like genes are involved in resistance against the beetcyst nematode (*Heterodera schachtii*), Plant Physiology and Biochemistry 140 (2019) 55–67
2. Binh-Nguyen Truong et. all, Characterization of the nematocidal toxocyst in *Pleurotus* subgen. *Coremiopleurotus*, Mycoscience (2007) 48:222–230
3. Björn Niere, et. all, Effect of temperature on the hatch of two German populations of the beet cyst nematodes, *Heterodera schachtii* and *Heterodera betae*, Journal of Plant Diseases and Protection, 122 (5/6), 250–254, 2015
4. Marcelo Barba Bellettini, Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp., Saudi Journal of Biological Sciences (2019) 26, 633–646
5. Shahid Siddique, Florian M.W. Grundler, Metabolism in Nematode Feeding Sites, Advances in Botanical Research, Volume 73 ISSN 0065-2296, 2015

Defense abilities of fungal hyphae against nematodes

Paweł Kudrys, Ewa Moliszewska, Małgorzata Nabrdalik

Institute of Environmental Engineering and Biotechnology, Faculty of Natural Sciences and Technology, University of Opole

pawel.kudrys@uni.opole.pl

Key words: nematodes, oyster mushroom, toxins, nematocidal activity

In the natural environment, mycelium is exposed to contact with other organisms inhabiting the same ecological niches. This makes them vulnerable also, among others, on mycophagous organisms. Among the methods of defense of mycelium against nematodes, the following can be distinguished: the ability to generate sophisticated traps, the ability to parasitize and the ability to produce toxins that paralyze nematodes [1, 2, 3]. Research also indicates the effects of fungal enzymes on nematode tissues. Such properties have been described for over 200 different species of fungi, eg belonging to the genera *Arthrobotrys*, *Coprinus*, *Harposporium*, *Climacodon*, *Lentinus*, *Pleurotus* and others [1,2,4]. Abilities that are useful to fungi in nature may find application applications, e.g. Numerous studies show that this is a good direction of protection against nematodes, although so far there are no spectacular practical applications.

Oyster mushroom (*Pleurotus*) is a type of popular edible mushroom, widely distributed all over the world. The oyster mushroom (*P. ostreatus*) is the most widely cultivated. It naturally produces fruiting bodies at rather low temperatures, its typical fruiting period in Poland is autumn to the beginning of winter (September-December). However, there are different varieties in cultivation, adapted to fruiting in different temperature ranges, which enables its production basically all year round. In oyster mushroom cultivation, other properties are also taken into account, such as the lack of sporulation capacity, which significantly extends their commercial durability and safety of use. Oyster mushrooms are also known for their wide pro-health properties [3, 4, 5]. However, their protective potential against nematodes parasitizing plants and animals has not been practically used, despite quite good knowledge about the mechanisms of their nematocidal activity. The nematocidal activity of oyster mushroom is based on the ability to produce a toxin - trans-2-decenedioic acid, appearing in the form of drops on specific protrusions growing on hyphae [4, 5]. So far, the individual differences in the possibilities of producing this substance by oyster mushroom mycelium have not been thoroughly investigated. The above summary provides an overview of the nematocidal properties of mycelium, with particular emphasis on the oyster mushroom.

1. Bachar Almaghrabi et. all, Arabidopsis thionin-like genes are involved in resistance against the beetcyst nematode (*Heterodera schachtii*), Plant Physiology and Biochemistry 140 (2019) 55–67
2. Binh-Nguyen Truong et. all, Characterization of the nematocidal toxocyst in *Pleurotus* subgen. *Coremiopleurotus*, Mycoscience (2007) 48:222–230
3. Björn Niere, et. all, Effect of temperature on the hatch of two German populations of the beet cyst nematodes, *Heterodera schachtii* and *Heterodera betae*, Journal of Plant Diseases and Protection, 122 (5/6), 250–254, 2015
4. Marcelo Barba Bellettini, Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp., Saudi Journal of Biological Sciences (2019) 26, 633–646
5. Shahid Siddique, Florian M.W. Grundler, Metabolism in Nematode Feeding Sites, Advances in Botanical Research, Volume 73 ISSN 0065-2296, 2015

Trufle w zmieniającym się klimacie: obecne i przyszłe rozmieszczenie optymalnych nisz ekologicznych dla *Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum* w Europie

Robin Wilgan, Marcin K. Dyderski, Marcin Pietras, Tomasz Leski

Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk

rwilgan@man.poznan.pl

Key words: ekologia grzybów, drzewa ektomykoryzowe, globalne ocieplenie, model rozmieszczenia gatunku

Z uwagi na swoje walory kulinarne, trufle są wysoko cenione i chętnie uprawiane w Europie, zwłaszcza na południu kontynentu. Trufle poprzez mutualistyczną symbiozę ektomykoryzową są związane z drzewami, a więc występowanie trufli wymaga obecności odpowiednich gatunków drzew. Klimat, który kształtuje występowanie gatunku w skali kontynentu [1], ulega zmianom, co zagraża występowaniu trufli i drzew na południu Europy [2,3,4]. Przewidywanie zmian w rozmieszczeniu nisz klimatycznych dla trufli i drzew w przyszłości może pomóc zachować uprawy trufli w Europie.

Celem badań było określenie, jak rozmieszczenie potencjalnych nisz ekologicznych dla dwóch gatunków trufli: *Tuber melanosporum* i *T. aestivum* w Europie może się zmienić wraz ze zmianą klimatu. W tym celu wykorzystano dane o występowaniu gatunków z bazy GBIF, bazy UNITE oraz literatury. Z użyciem programu MaxEnt, 19 zmiennych klimatycznych oraz danych o rozmieszczeniu drzew z którymi trufle nawiązują symbiozę ektomykoryzową, wygenerowano modele potencjalnego rozmieszczenia nisz ekologicznych dla trufli w Europie. Wykorzystano trzy scenariusze zmian klimatu w następnych dekadach: niewielkie (B2b), umiarkowane (A2a) oraz znaczne zmiany klimatu (A1b), jak również porównano modele wykonane z użyciem danych dla drzew o różnych zasięgach występowania w Europie: szeroko rozpowszechnionych (*Quercus robur*, *Corylus avellana*), powszechnych na południu Europy (*Q. ilex*, *Castanea sativa*) oraz obcych w Europie, ale stosowanych w uprawie trufli w USA (*Carya illinoensis*).

Otrzymane wyniki wskazują, że w przyszłości optymalne nisze ekologiczne dla trufli *Tuber melanosporum*, *T. aestivum* oraz drzew z którymi trufle te są związane, przesuną się na północ. Na południu Europy powierzchnia nisz ekologicznych dla tych gatunków będzie się znacząco kurczyć, z kolei na północy kontynentu, tj. powyżej równoleżnika 48°N, warunki klimatyczne będą im sprzyjać. Trend do przesunięcia się optymalnych nisz dla trufli i drzew na północ zaobserwowano w każdym scenariuszu zmian klimatu. Występowanie drzew okazało się najważniejszym czynnikiem, wpływającym na potencjalne występowanie trufli. W dalszej kolejności na występowanie trufli wpływały opady w najchłodniejszym kwartale, średnia roczna temperatura i sezonowość temperatur. Ponieważ gwałtownie postępujące globalne ocieplenie zagraża zarazem uprawom trufli na południu Europy, jak i tworzy nowe nisze dla trufli na północy Europy, sugerujemy podjęcie przygotowań do przeniesienia europejskich upraw trufli z południa kontynentu w regiony położone dalej na północ.

1. Pearson R.G., Dawson T.P. 2003. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: Are bioclimate envelope models useful? *Glob. Ecol. Biogeogr.* 12(5):361-371.
2. Thomas P., Büntgen, U., 2019. A risk assessment of Europe's black truffle sector under predicted climate change. *Science of the Total Environment* 655:27-34.
3. Dyderski M.K., Paż S., Frelich L.E., Jagodziński A.M. 2018. How much does climate change threaten European forest tree species distributions? *Global Change Biology* 24(3): 1150-1163.
4. Thurm E.A., Hernandez L., Baltensweiler A., ... Falk, W., 2018. Alternative tree species under climate warming in managed European forests. *Forest Ecology and Management* 430:485-497.

Truffles under climate change – the current and future distribution of optimal ecological niches for *Tuber melanosporum* and *T. aestivum* in Europe

Robin Wilgan, Marcin K. Dyderski, Marcin Pietras, Tomasz Leski

Institute of Dendrology, Polish Academy of Sciences

rwilgan@man.poznan.pl

Key words: fungal ecology, ectomycorrhizal tree partners, global warming, species distribution models

Truffles are widely cultivated fungi, prized for their culinary value and economically important in southern Europe. They form ectomycorrhizal symbiosis, close mutualistic relationship with trees, thus the distribution and cultivation of truffles depend on the presence of tree partners. At the continental scale, climate shapes the distribution of organisms [1] and global warming threatens truffles and their tree partners in southern Europe [2,3,4]. Thus the prediction of changes in the distribution of niches for these associated species is crucial to maintain European truffle cultivation.

We aimed to predict the potential distribution of *Tuber melanosporum*, *T. aestivum*, and their tree partners in Europe under changing climate. We used distribution data from GBIF and completed it with data from UNITE database and literature. Using MaxEnt models, we prepared species distribution models related to climate change between 2020 and 2080 using 19 bioclimatic variables and the distribution data of their tree partners. We applied three climate change scenarios A1b, A2a, and B2b representing medium, major and minor changes of climate. We also compare the results obtained among three groups of trees commonly used for truffle cultivation and representing different distribution in Europe: widespread (*Quercus robur*, *Corylus avellana*), common in southern Europe (*Q. ilex*, *Castanea sativa*), and non-native tree used in truffle orchards in USA (*Carya illinoensis*)

Our results show a northward shift in the distribution of climatic niches for truffles and their tree partners in the future. We predicted the major decrease in the area of niches for truffles in southern Europe and its substantial increase in northern Europe (>48th parallel). The general trend was common for tested species and climatic scenarios. The distribution of ectomycorrhizal trees was the predictor of the highest importance for the distribution of truffles. Among climatic variables, precipitation of the coldest quarter, annual mean temperature, and temperature seasonality were the predictors of the highest importance. Because global warming is accelerating at an alarming rate, its consequences will seriously threaten truffles and their tree partners in the Mediterranean region and generate new climatic niches for these species in regions situated further up north, we suggest the preparation to move northward the European truffle orchards.

1. Pearson R.G., Dawson T.P. 2003. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: Are bioclimate envelope models useful? *Glob. Ecol. Biogeogr.* 12(5):361-371.
2. Thomas P., Büntgen, U., 2019. A risk assessment of Europe's black truffle sector under predicted climate change. *Science of the Total Environment* 655:27-34.
3. Dyderski M.K., Paź S., Frelich L.E., Jagodziński A.M. 2018. How much does climate change threaten European forest tree species distributions? *Global Change Biology*: 24(3), 1150–1163.
4. Thurm E.A., Hernandez L., Baltensweiler A., ... Falk, W., 2018. Alternative tree species under climate warming in managed European forests. *Forest Ecology and Management* 430:485-497.

Różnorodność grzybów glebowych w transekcje górskim doliny Val Mulix w Szwajcarii ze szczególnym uwzględnieniem przedstawicieli Mortierellomycota oraz ich adaptacjami symbiotycznymi i morfo-fizjologicznymi do środowiska alpejskiego

Zofia Mencwel, Marta Wrzosek

Ogród Botaniczny, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

zosiamencwel@gmail.com

Słowa kluczowe: Mortierellomycota, oligotrofizm, NGS, różnorodność biologiczna, symbiozy

Prezentowane badania dotyczą różnorodności oraz składu taksonomicznego zbiorowisk grzybów glebowych w kolejnych piętrach górskich alpejskiej doliny Val Mulix (Park Ela, Gryzonia, Szwajcaria), ze szczególnym uwzględnieniem przedstawicieli Mortierellomycota. Jest to stara ewolucyjnie linia grzybów zwana po polsku głodówkowatymi. Grzyby te jako jedne z pierwszych opanowały środowisko lądowe. Polska nazwa grupy wskazuje na ich niskie wymagania siedliskowe i szeroką tolerancję do trudnych warunków środowiska. Analiz próbek gleby dokonano za pomocą techniki wysokoprzepustowego sekwencjonowania DNA środowiskowego (NGS). Zauważono, że w Alpach głodówkowate występują znacznie bardziej obficie (około 30% OTUs) niż w analogicznych siedliskach różnych szerokości geograficznych (tajdze i tundrze oraz lasach borealnych – około 5% - 10% odczytów). Dane z publikacji grupy badawczej Tedersoo [1] stanowiły punkt odniesienia dla uzyskanych tutaj wyników. Wykazano że różnorodność gatunkowa Mortierellomycota nie spada wraz ze wzrostem wysokości nad poziomem morza. Te zaskakujące wyniki wskazują na potrzebę szerzej zakrojonych badań biogeografii grzybów w siedliskach wysokogórskich na świecie. Dodatkowymi metodami laboratoryjnymi sprawdzano, jakie mogą być przystosowania grzybów głodówkowatych dające im konkurencyjną przewagę w zasiedlaniu ekstremalnych środowisk i gleb inicjalnych. Wskazano i omówiono możliwą rolę symbioz z bakteriami wewnątrzstrzępkowymi i zewnątrzstrzępkowymi lub innymi grzybami (*Fusarium* sp.) oraz rolę cech morfologiczno-fizjologicznych grzybni. Uzyskane z sekwencjonowania wysokoprzepustowego wyniki sugerują obfite występowanie nowych dla nauki taksonów grzybów w środowiskach wysokogórskich. Badanie przystosowań do życia w ekstremalnych środowiskach, jakie wykazują stare linie ewolucyjne grzybów (*basal lineages*), pozwalają lepiej zrozumieć procesy wczesnej ewolucji grzybów w środowisku lądowym.

1. Tedersoo, L., Bahram, M., Pölme, S., Kõljalg, U., Yorou, N. S., Wijesundera, R., Ruiz, L. V., Vasco-Palacios, A. M., Thu, P. Q., Suija, A., Smith, M. E., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Põldmaa, K., ... Abarenkov, K. (2014). Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 346(6213), 1256688.

Soil fungi diversity in an altitude transect of the Swiss Val Mulix valley with special focus on Mortierellomycota fungi and their symbiotic and morpho-physiological adaptations to the alpine environment

Zofia Mencwel, Marta Wrzosek

Botanic Garden, Faculty of Biology, University of Warsaw

zosiamencwel@gmail.com

Key words: Mortierellomycota, oligotrophy, NGS, biodiversity, symbioses

The presented research addresses the diversity and taxonomic composition of soil fungal communities in subsequent altitudinal zones of Val Mulix valley in the Swiss Alps (Parc Ela, Grisons) with particular focus on fungi belonging to Mortierellomycota. The taxon comprises an evolutionarily old lineage of fungi belonging to the so called *basal clades* that first colonized land habitats. They are a group that has low habitat requirements and can survive in harsh environmental conditions. Soil probes were analyzed by high throughput DNA sequencing methods (NGS). This study shows that representatives of the *Mortierella* genus are much more abundant in the Alps (almost 30% sequence reads) than in analogous habitats along the latitudinal gradient (taiga, tundra and boreal forest – about 5% - 10% reads). Tedersoo's biogeographical paper [1] was the reference framework for the obtained data. It was also found that species diversity within the taxon does not decrease with the increase of altitude above sea level. These are intriguing results that indicate a need for further research for a better understanding of these biogeographical patterns. Additional laboratory methods were used to investigate the adaptations that allow the survival of Mortierellomycota representatives in extreme conditions and give them competitive advantage. Potential roles of symbiotic interactions with intrahyphal or interhyphal bacteria or other fungi (*Fusarium* sp.) were considered and morpho-physiological features of the fungi were discussed. The obtained sequence reads from high-throughput environmental sequencing also suggest a numerous presence of fungal taxa new to science in high altitude environments. Understanding the adaptations that ancient fungal lineages exhibit in extreme terrestrial habitats can bring new insight in the early evolution of land fungi.

1. Tedersoo, L., Bahram, M., Pölme, S., Kõljalg, U., Yorou, N. S., Wijesundera, R., Ruiz, L. V., Vasco-Palacios, A. M., Thu, P. Q., Suija, A., Smith, M. E., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Põldmaa, K., ... Abarenkov, K. (2014). Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 346(6213), 1256688.

Bakterie wewnątrzstrzępkowe grzybów *Mucoromycota*

Alicja Okraśńska¹, Aleksandra Gęsiorska¹, Aleksandra Milobędzka¹, Marta Wrzosek², Julia Pawłowska¹

¹*Instytut Biologii Ewolucyjnej, Wydział Biologii, Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych, Uniwersytet Warszawski*

²*Ogród Botaniczny, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski*

a.okrasinska@uw.edu.pl

Słowa kluczowe: *Umbelopsis*, bakterie endosymbiotyczne, interakcje grzybowo-bakteryjne, EHB

Od dawna znane są związki grzybów ze zwierzętami czy roślinami, jednak dopiero od niedawna dysponujemy metodami pozwalającymi na badanie interakcji grzybów z bakteriami. Szczególnie interesujące, a przy tym dość trudne do uchwycenia, są związki grzybów z bakteriami żyjącymi w ich strzępkach. Badania nad takimi interakcjami sugerują, że endosymbionty mogą wpływać na gospodarza w różnoraki sposób [1,2]. Na razie nie wiadomo jednak ani jak częste w przyrodzie są bakterie wewnątrzstrzępkowe, ani co warunkuje ich występowanie. Grupą grzybów, które zasługują na szczególną uwagę w kontekście ich interakcji z endobakteriami, są grzyby z typu *Mucoromycota*. Obecnie panuje konsensus, że przodkowie współczesnych *Mucoromycota* współuczestniczyli w kolonizacji lądu przez rośliny [3]. Niewielka różnorodność bakterii w strzępkach przedstawicieli tej grupy (wyróżniająca na tle bogatego mikrobiomu workowców czy podstawczaków) sugeruje ich stare pochodzenie, a więc potencjalnie – udział we wczesnych fazach rozwoju roślin lądowych.

W niniejszym projekcie przebadaliśmy 196 szczepów należących do *Mucoromycota* na obecność bakterii wewnątrzstrzępkowych. W tym celu z każdej kultury izolowano całkowite DNA, którego następnie używano jako matrycy reakcji PCR. W przypadku stwierdzenia obecności bakteryjnego genu 16S rDNA, sekwencjonowano go i porównywano z bazą NCBI w celu ustalenia przynależności taksonomicznej wykrytych bakterii.

Do najważniejszych wyników naszych badań należy wykrycie bakterii należących do rodziny *Burkholderiaceae* u prawie 20% szczepów, w tym u ponad 40% przedstawicieli *Umbelopsis* – rodzaju u którego wcześniej nie odnotowano ich obecności. Wykryte u *Umbelopsis* bakterie należą do *Paraburkholderia* – rodzaju, którego przedstawiciele nie byli wcześniej znani jako endosymbionty grzybów [4]. Co ciekawe, szczepy *Umbelopsis* często izolowane są z ryzosfery lub substratów roślinnych, co czyni je jeszcze ciekawszymi w kontekście ewolucji interakcji *Mucoromycota* zarówno z bakteriami, jak i roślinami.

Naszym dalszym celem jest zrozumienie mechanizmu i dynamiki nowoodkrytego związku *Umbelopsis-Paraburkholderia*. W najbliższej przyszłości planujemy więc nie tylko wykonanie lepszej jakości zdjęć potwierdzających umiejscowienie bakterii wewnątrz strzępek grzyba, ale również analizę transkryptomów obu partnerów – w celu stwierdzenia jakie geny uczestniczą w nawiązywaniu i podtrzymywaniu relacji symbiotycznych.

1. Partida-Martinez, L. P. i Hertweck, C. Pathogenic fungus harbours endosymbiotic bacteria for toxin production. *Nature* **437**, 884–888 (2005).
2. Uehling, J. i wsp. Comparative genomics of *Mortierella elongata* and its bacterial endosymbiont *Mycoavidus cysteinexigens*. *Environ. Microbiol.* **19**, 2964–2983 (2017).
3. Bonfante, P. i Venice, F. *Mucoromycota*: going to the roots of plant-interacting fungi. *Fungal Biol. Rev.* **34**, 100–113 (2020).
4. Okraśńska, A. i wsp. New Endohyphal Relationships between *Mucoromycota* and *Burkholderiaceae* Representatives. *Appl. Environ. Microbiol.* **87**, e02707-20, /aem/87/7/AEM.02707-20.atom (2021).

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki: granty 2016/23/B/NZ8/00897 i 2017/25/B/NZ8/00473.

Endohyphal bacteria of Mucoromycota representatives

Alicja Okraśńska¹, Aleksandra Gęsiorska¹, Aleksandra Milobędzka¹, Marta Wrzosek², Julia Pawłowska¹

¹Institute of Evolutionary Biology, Faculty of Biology, Biological and Chemical Research Centre, University of Warsaw

²Botanic Garden, Faculty of Biology, University of Warsaw

a.okrasinska@uw.edu.pl

Key words: *Umbelopsis*, endohyphal bacteria, fungal-bacterial interactions, EHB

Fungal relationships with animals and plants have been known for a long time, whereas their interactions with bacteria became possible to study only recently. Special form of fungal-bacterial interactions are endohyphal bacteria (EHB). According to the previous research, EHB can impact the host's fitness in both positive [1] and negative [2] way. More research is needed however to draw any wider ecological conclusions – i.e. on how widespread EHB are in the environment and what are the driving factors for their presence.

One of the groups which draws attention in the fungal-bacterial interactions field is Mucoromycota. Currently, the scientific consensus is that ancestors of extant Mucoromycota played a part in plant terrestrialization [3]. Moreover, when compared to the rich microbiome of dikaryotic fungi, few lineages of EHB present in Mucoromycota suggest the ancient origin of these relationships, which leads to a question whether such holobiont could have participated in the first stages of land plants' development.

In the current study, we screened 196 Mucoromycota strains for the presence of EHB, using 16S rDNA-targeted PCR. If the gene was present, then it was Sanger sequenced and blasted against NCBI database in order to obtain taxonomic information on detected bacteria. As a result, nearly 20% of the strains tested positive for Burkholderiaceae-related endosymbionts (BRE). However, one of the most important finding of our study is identifying BRE in over 40% of screened *Umbelopsis* spp., being the first report of EHB in this genus. Moreover, bacteria identified in the *Umbelopsis* strains belong to *Paraburkholderia* – a genus which was not reported as EHB before [4]. What makes this relationship even more interesting is that *Umbelopsis* spp. are often isolated from rhizosphere and plant matter. Further studies on *Umbelopsis-Paraburkholderia* relations can thus shed light on the coevolution of Mucoromycota with both bacteria and plants.

Our further plans encompass a better understanding of nature and dynamics of the newly discovered *Umbelopsis-Paraburkholderia* relationship. In the nearest future, we plan to take TEM pictures which will confirm the presence of bacteria within hyphae. We also plan to analyse the transcriptomes of both partners to identify the genes involved in establishing and maintaining symbiosis.

1. Partida-Martinez, L. P. & Hertweck, C. Pathogenic fungus harbours endosymbiotic bacteria for toxin production. *Nature* **437**, 884–888 (2005).
2. Uehling, J. *et al.* Comparative genomics of *Mortierella elongata* and its bacterial endosymbiont *Mycoavidus cysteinexigens*. *Environ. Microbiol.* **19**, 2964–2983 (2017).
3. Bonfante, P. & Venice, F. Mucoromycota: going to the roots of plant-interacting fungi. *Fungal Biol. Rev.* **34**, 100–113 (2020).
4. Okraśńska, A. *et al.* New Endohyphal Relationships between Mucoromycota and *Burkholderiaceae* Representatives. *Appl. Environ. Microbiol.* **87**, e02707-20, /aem/87/7/AEM.02707-20.atom (2021).

Project was financed by National Research Centre under grants no. 2016/23/B/NZ8/00897 and 2017/25/B/NZ8/00473.

Różnorodność bakterii wewnątrzstrzępkowych u przedstawicieli rodzaju *Umbelopsis*

Aleksandra Gęsiorska, Julia Pawłowska

Instytut Biologii Ewolucyjnej, Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

a.gesiorska@student.uw.edu.pl

Słowa kluczowe: EHB, *Paraburkholderia*, *Umbelopsis*, Mucoromycota, interakcje bakteryjno-grzybowe

Związki symbiotyczne bakterii i grzybów są powszechne w środowisku glebowym. Najbardziej ścisłym rodzajem tych relacji jest endosymbioza. Bakterie żyjące wewnątrz strzępek grzybów występują licznie u najstarszych rzędów w obrębie typu Mucoromycota. Chociaż potwierdzono ich obecność u przedstawicieli Endogonales i Mucorales, do tej pory nie sprawdzono ich obecności u blisko z nimi spokrewnionych grzybów z rzędu Umbelopsidales [1, 2]. U 55 świeżo wyizolowanych szczepów *Umbelopsis* sp. sprawdzono obecność i zidentyfikowano bakterie za pomocą klonowania amplikonu 16S rDNA. Bakterie wewnątrzstrzępkowe stwierdzono u 58,9% szczepów *Umbelopsis*. Dzięki fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ*, której poddano wybrane szczepy, potwierdzono wewnątrzstrzępkową lokalizację symbiontów. Bakteryjne endosymbionty zidentyfikowano jako przedstawicieli rodzaju *Paraburkholderia*, ustalając tym samym nową linię grzybowych endobiontów [2].

1. Okraśńska, A., Bokus, A., Duk, K., Gęsiorska, A., Sokołowska, B., Miłobędzka, A., Wrzosek, M., Pawłowska, J. (2021). New Endohyphal Relationships between Mucoromycota and Burkholderiaceae Representatives. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(7).
2. Gęsiorska, A. (2020), Różnorodność bakterii wewnątrzstrzępkowych u przedstawicieli rodzaju *Umbelopsis*. Msc. pracy licencjackiej. Uniwersytet Warszawski, Warszawa

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki: granty 2016/23/B/NZ8/00897 i 2017/25/B/NZ8/00473.

Diversity of endosymbiotic bacteria in *Umbelopsis* representatives

Aleksandra Gęsiorska, Julia Pawłowska

Institute of Evolutionary Biology, Biological and Chemical Research Centre, Faculty of Biology, University of Warsaw

a.gesiorska@student.uw.edu.pl

Key words: EHB, *Paraburkholderia*, *Umbelopsis*, Mucoromycota, bacterial-fungal interactions

Symbiotic relationships of bacteria and fungi are common and widespread in soil environment. Endosymbiosis is the most intimate kind of such relations. Endohyphal bacteria, living inside fungal mycelium, are frequently identified within the most ancient lineages of Mucoromycota. While their presence had already been confirmed within representatives of Endogonales and Mucorales, endosymbionts of closely related Umbelopsidales remained unresearched [1, 2]. 55 freshly isolated *Umbelopsis* sp. strains were screened for the presence of symbiotic bacteria by cloning 16S rDNA amplicons. Endohyphal bacteria were detected in 58,9% strains belonging to *Umbelopsis*. Fluorescent *in situ* hybridization of chosen strains confirmed endohyphal location of symbionts. Bacteria were identified as *Paraburkholderia* species, establishing new line of fungal endosymbionts [2].

1. Okraśńska, A., Bokus, A., Duk, K., Gęsiorska, A., Sokołowska, B., Miłobędzka, A., Wrzosek, M., Pawłowska, J. (2021). New Endohyphal Relationships between Mucoromycota and Burkholderiaceae Representatives., *Applied and Environmental Microbiology*, 87(7).
2. Gęsiorska, A. (2020), Różnorodność bakterii wewnątrzstrzępkowych u przedstawicieli rodzaju *Umbelopsis*, Msc bachelor thesis, University of Warsaw.

Project was financed by National Research Centre under grants no. 2016/23/B/NZ8/00897 and 2017/25/B/NZ8/00473.

Czy monogamia jest opłacalna? - interakcje endofitów owadobójczych z bakteriami

Kamil Kisło, Marta Wrzosek

Ogród Botaniczny Uniwersytetu Warszawskiego

k.kislo@student.uw.edu.pl

Słowa kluczowe: endofity, Cordycipitaceae, grzyby owadobójcze

Endofity to mikroorganizmy żyjące naturalnie wewnątrz tkanek roślinnych. Obecność tego typu drobnoustrojów nie tylko zdaje się nie szkodzić gospodarzowi, ale również wspierać go w pełnieniu podstawowych funkcji życiowych poprzez syntezę czynników wzrostu, walkę z patogenami, czy nawet aktywne dostarczanie substancji odżywczych [2]. Owadobójcze grzyby z rodziny Cordycipitaceae (rząd Hypocreales) również mogą być endofitami, co umożliwia ich potencjalne użycie jako środków ochrony roślin (np. w formie „szczepionek roślinnych”). Mimo obecności tego typu preparatów na rynku, ich skuteczność pozostawia wiele do życzenia. Sam sukces endofityzacji jest często stosunkowo niski [3]. Być może rozwiązanie tego problemu stanowi obecność (brak) jeszcze jednego partnera w tej grzybowo – roślinnej interakcji. Dane literaturowe mówią o częstym współwystępowaniu grzybów z różnymi gatunkami bakterii wewnątrz- lub zewnątrzstrzępkowych [1], które potrafią poszerzyć wachlarz produkowanych przez grzyby metabolitów wtórnych, czy nawet zmienić źródło węgla pobieranego przez gospodarza [4]. Celem prezentowanego badania jest wyprowadzenie stu szczepów grzybów owadobójczych z rodziny Cordycipitaceae w kultury akseniczne, przeprowadzenie analiz prowadzących w kierunku wyselekcjonowania izolatów wchodzących w interakcję z bakteriami oraz charakteryzujących się jak najwyższym wskaźnikiem endofityzacji sztucznej po zainokulowaniu nimi żyta. Jak dotąd uzyskano kilkadziesiąt izolatów środowiskowych (glebowych oraz pochodzących z żyta). Amplifikacja fragmentu genu kodującego bakteryjną podjednostkę rybosomalną (16S rDNA) metodą PCR, a także wizualizacja wyników na żelu agarozowym wykazała, że w niektórych ze wspomnianych wyżej izolatów występują bakterie zewnątrz- lub wewnątrzstrzępkowe. Dalszymi krokami będą: sprawdzenie charakteru interakcji grzybowo – bakteryjnej oraz, w przypadku uzyskania wyników wskazujących na interakcję synergistyczną, próba inokulacji sterylnego żyta (*Secale cereale* L.) zarodnikami wybranych grzybów. Badanie wykaże czy grzyby i bakterie stanowią parę współdziałającą w procesie endofityzacji, czy może obecność bakterii działa wbrew symbiozie grzybów z roślinami.

1. Hoffman, M.T., and Arnold, A.E. (2010). Diverse Bacteria Inhabit Living Hyphae of Phylogenetically Diverse Fungal Endophytes. *AEM* 76, 4063–4075.
2. Ownley, B.H., Gwinn, K.D., and Vega, F.E. (2010). Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl* 55, 113–128.
3. Parsa, S., Ortiz, V., and Vega, F.E. (2013). Establishing Fungal Entomopathogens as Endophytes: Towards Endophytic Biological Control. *JoVE* 50360.
4. Shaffer, J.P., U'Ren, J.M., Gallery, R.E., Baltrus, D.A., and Arnold, A.E. (2017). An Endohyphal Bacterium (*Chitinophaga*, Bacteroidetes) Alters Carbon Source Use by *Fusarium keratoplasticum* (*F. solani* Species Complex, Nectriaceae). *Front. Microbiol.* 8.

Is monogamy profitable? - fungal entomopathogens – bacteria interaction

Kamil Kislo, Marta Wrzosek

Botanic Garden, Faculty of Biology, University of Warsaw

k.kislo@student.uw.edu.pl

Key words: endophytes, Cordycipitaceae, fungal entomopathogens

Endophytes are microorganisms naturally inhabiting living plant tissues. Their appearance not only doesn't seem to be harmful to plant but also is considered as supportive for plants' basic life processes due to production plant growth factors, active pathogens elimination, and even active delivery of nutrients to plant host [2]. Entomopathogenic representatives of family Cordycipitaceae (order Hypocreales) are also isolated as endophytes which enable them to be natural pesticides or even fungicides. Despite of usage their spores as „plant vaccines”, their effectiveness is not very high [3]. Maybe a solution to that problem is the presence (absence) of one more partner of this interaction. Some papers mention coexistence of fungi and some exo- and endohyphal bacteria [1] which can improve the production of fungal secondary metabolites or even alternate carbon sources used by their host [4]. The aim of the presented study is to obtain one hundred axenic cultures of entomopathogenic Cordycipitaceae family representatives, screen them in search of bacterial presence, choose ones with the highest artificial inoculation success ratio. By now several dozen of environmental isolates were obtained from soil and as rye endophytes. Amplification of gene coding bacterial small ribosomal subunit (16S rDNA) with the usage of a standard PCR method and visualization results of this reaction on agarose gel proved that some of the isolated cultures have exo- or endohyphal bacteria. The next steps will be verification of the interaction character and, in case of detection of the synergistic ones, attempt to sterile rye (*Secale cereale* L.) artificial inoculation with a fungal spores water solution. This research will show if fungi and bacteria are a couple that cooperates during the endophytisation or interaction between them acts against fungal – plant symbiosis.

1. Hoffman, M.T., and Arnold, A.E. (2010). Diverse Bacteria Inhabit Living Hyphae of Phylogenetically Diverse Fungal Endophytes. *AEM* 76, 4063–4075.
2. Ownley, B.H., Gwinn, K.D., and Vega, F.E. (2010). Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl* 55, 113–128.
3. Parsa, S., Ortiz, V., and Vega, F.E. (2013). Establishing Fungal Entomopathogens as Endophytes: Towards Endophytic Biological Control. *JoVE* 50360.
4. Shaffer, J.P., U'Ren, J.M., Gallery, R.E., Baltrus, D.A., and Arnold, A.E. (2017). An Endohyphal Bacterium (*Chitinophaga*, Bacteroidetes) Alters Carbon Source Use by *Fusarium keratoplasticum* (*F. solani* Species Complex, Nectriaceae). *Front. Microbiol.* 8.

Profil ekspresji miR398, miR167 i miR159 w interakcji pomiędzy pszenicą zwyczajną (*Triticum aestivum* L.) oraz grzybami z rodzajów *Fusarium* i *Trichoderma*

Julia Alicja Żok, Lidia Błaszczyk, Sylwia Salamon

Zakład Mikrobiomiki Roślin, Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk

ssal@igr.poznan.pl

Słowa kluczowe: pszenica, interakcje, microRNA, *Fusarium*, *Trichoderma*

Pszenica zwyczajna (*Triticum aestivum* L.) jest istotnym gospodarczo zbożem uprawianym na całym świecie. Uprawa pszenicy jest jednak ograniczona przez wiele czynników, w tym stres biotyczny występujący na skutek działalności patogenicznego grzyba *Fusarium culmorum*. Wspomniany patogen wywołuje zgorzel korzeni i podstawy źdźbła oraz fuzariozę kłosów pszenicy. Silnymi antagonistami mykotoksycznych *Fusarium* spp. są symbiotyczne grzyby: *Trichoderma atroviride* i *Trichoderma cremeum*. Grzyby te promują wzrost roślin oraz wzmacniają ich tolerancję względem negatywnych czynników środowiskowych. miRNA należą do grupy małych, niekodujących RNA, które kontrolują ekspresję genów poprzez przyłączenie się do komplementarnej sekwencji w obrębie docelowego mRNA. Wiadomo, że miRNA są zaangażowane w reakcje obronne i odpornościowe roślin, jednak wiedza o ich znaczeniu w interakcji z symbiotycznymi grzybami jest ograniczona. Celem badań było określenie i porównanie profilu ekspresji (w organach nadziemnych i podziemnych) trzech wybranych miRNA (miR398, miR167 i miR159) w pszenicy inokulowanej dwoma szczepami *F. culmorum* (KF846 i EW49) oraz *T. atroviride* (AN35) i *T. cremeum* (AN392).

Analizą objęto liście i korzenie polskiej odmiany pszenicy ozimej Legenda, zebrane siedem dni po inokulacji wyselekcjonowanymi grzybami. Z wykorzystaniem metody ddPCR (*droplet digital PCR*) przeprowadzono absolutną kwantyfikację wybranych miRNA w badanym materiale. Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała istotne różnice w poziomie ekspresji badanych miRNA w analizowanych grupach. W porównaniu do kontroli, rośliny inokulowane *T. atroviride* prezentowały wzrost miRNA398 w korzeniu, natomiast inokulacja *F. culmorum* (EW49) spowodowała obniżenie ekspresji miRNA398. Badane typy interakcji, zarówno z grzybami patogenicznymi jak i symbiotycznymi, spowodowały obniżenie ekspresji miRNA167 w korzeniach, natomiast w liściach tylko *T. atroviride* wywołał ten efekt. Różnice w poziomie ekspresji miR159 pomiędzy badanymi grupami zaobserwowano jedynie w liściach pszenicy. Uzyskane wyniki wskazują na znaczenie miRNA w badanych interakcjach.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu nr 2015/19/B/NZ9/03083

Expression profile of miR398, miR167, and miR159 in the interaction between common wheat (*Triticum aestivum* L.) and *Fusarium* and *Trichoderma* fungi

Julia Alicja Żok, Lidia Błaszczyk, Sylwia Salamon

Department of Plant Microbiomics, Institute of Plant Genetics Polish Academy of Sciences

ssal@igr.poznan.pl

Key words: wheat, interactions, microRNA. *Fusarium*, *Trichoderma*

Common wheat (*Triticum aestivum* L.) is an agronomically significant cereal cultivated worldwide. Unfortunately, wheat breeding is limited by numerous factors, including the biotic stress caused by pathogenic *Fusarium culmorum*. This pathogen is a causative agent of Fusarium Root Rot and Fusarium Head Blight. Symbiotic fungi: *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma cremeum* are strong antagonists of mycotoxic *Fusarium* spp. These fungi promote plant growth and enhance their tolerance to negative environmental conditions. miRNAs belong to a group of small, non-coding RNAs and control gene expression by binding to a complementary sequence within the target mRNA. Growing evidence exists that miRNAs in plants are involved in defense and immune responses, however, knowledge about their role in the interactions with beneficial fungi is scarce. The aim of the study was to determine and compare the spatial expression profiles (in above- and underground organs) of three selected miRNAs (miR398, miR167, and miR159) in wheat inoculated with two strains of *F. culmorum* (KF846 and EW49) and with *T. atroviride* (AN35) and *T. cremeum* (AN392).

The analyses were performed on leaves and roots of Polish winter wheat cultivar Legenda collected seven days after inoculations with studied fungi. With the use of the ddPCR (*droplet digital* PCR) the absolute quantification of the selected miRNAs in the tested material was carried out. Statistical analysis of the obtained results showed significant differences in the expression level of studied miRNAs in the analyzed groups. In comparison to control, an increase of miRNA398 in the root was observed in the plants after *T. atroviride* inoculation, while *F. culmorum* (EW49) inoculation resulted in lower miRNA398 expression. Both types of interaction, with pathogenic and symbiotic fungi, resulted in downregulation of the miRNA167 in wheat roots, contrary in the leaves only the *T. atroviride* caused this effect. Differences in the expression levels of miR159 between studied groups were only observed in the wheat leaves. The obtained results indicate the importance of miRNAs in the studied interactions.

This study was supported by the National Science Centre in Poland, grant No 2015/19/B/NZ9/03083

Efektywność interakcji mykopasożytniczej pomiędzy *Trichoderma koningiopsis* TkZ3A0 a *Fusarium culmorum* Fc37 w warunkach stresu metali ciężkich (kadmu, ołowiu i cynku)

Artur Nowak, Ewa Kowalska, Wiktoria Portka, Renata Tyśkiewicz, Jolanta Jaroszuk-Ścisiel

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

artur.nowak@poczta.umcs.lublin.pl

Słowa kluczowe: mykopasożytnictwo, fitopatogeny, metale ciężkie, efekt biotyczny

Grzyby *Trichoderma* spp. ograniczają wzrost innych grzybów, w tym wielu fitopatogenów. Wykorzystują liczne mechanizmy: antagonizm, antybiozę, mykopasożytnictwo oparte na mykolizie poprzez CWDE (ang. *Cell Wall Degrading Enzymes*) oraz indukcję odpowiedzi obronnej roślin [1,2], które są podstawą działania czynników aktywnych preparatów biologicznej ochrony roślin. Wiele szczepów *Trichoderma* spp. zostało wykorzystanych w komercyjnych preparatach (np. w Rizocore i Trifender A zawierających szczepy z gatunków *T. asperellum* i *T. harzianum*) biokontroli roślin przed grzybowymi fitopatogenami. Groźnymi fitopatogenami są grzyby *Fusarium* spp. działające w kompleksach wielogatunkowych i powodujące szereg chorób roślin jedno- i dwuliściennych, a szczególnie roślin zbożowych: zgniliznę korzeni, zarazę siewek oraz FHB (ang. *Fusarium Head Blight*) [3,4]. Nowym wyzwaniem jest tworzenie preparatów efektywnie zwalczających fitopatogeniczne *Fusarium* spp. w warunkach skażenia środowiska ksenobiotykami, w tym metalami ciężkimi. Konieczne jest określenie czy szczepy *Trichoderma* spp., dla których udowodniono zdolność efektywnego ograniczania wzrostu *Fusarium* spp. w warunkach braku skażenia, będą efektywne w środowisku skażonym. W testach biotycznych na różnych podłożach wykazano silne (93%) zdolności ograniczania wzrostu fitopatogenicznego *F. culmorum* Fc37 przez mykopasożytniczy szczep *T. koningiopsis* Tkz3A0 [2]. Celem pracy było porównanie efektu biotycznego pomiędzy tymi szczepami i tempa wzrostu ich kolonii w hodowlach bez obecności izododatkiem jonów metali ciężkich Cd, Zn i Pb wprowadzonych w pięciu stężeniach 2, 4, 6, 8, 10 µg/ml. Tempo wzrostu szczepów określono na podłożach stałych RB z 1% glukozą i 1% sacharozą w trzech (12, 20 i 28°C) temperaturach inkubacji. Stwierdzono, że wzrost fitopatogenicznego szczepu *F. culmorum* Fc37 w obecności metali ciężkich był silniej hamowany niż wzrost szczepu *T. koningiopsis* Tkz3A0. Wzrost Fc37 został całkowicie zahamowany w obecności 6 µg/ml Cd, do ok. 60% w obecności 4 µg/ml Zn i do ok. 30% w obecności 8 µg/ml jonów Pb. Wzrost mykopasożytniczego szczepu Tkz3A0 został zahamowany w ok. 50% w obecności 6 µg/ml Cd oraz tej samej dawki jonów Zn i do ok. 40% w obecności 8 µg/ml jonów Pb. Zwykle najsilniejszą redukcję obserwowano na podłożu z sacharozą i w temperaturze inkubacji 12°C. Szczep *T. koningiopsis* Tkz3A0 wykazywał zdolność ograniczania wzrostu szczepu *F. culmorum* Fc37 w podłożach (Martin, PDA, Czapek-Dox) zawierających poszczególne metale. Sumaryczna wartość efektu biotycznego oraz stopień redukcji kolonii Fc37 przy braku metalu i w ich obecności były zbliżone, ale w temperaturze 12°C i w obecności Zn oraz Pb szczep Tkz3A0 hamował wzrost Fc37 o 10-20% słabiej niż w podłożach bez dodatku metali.

Można wnioskować, że w obecności metali ciężkich preparat biologicznej ochrony zawierający szczep *T. koningiopsis* chroniłby efektywnie rośliny przed porażeniem grzybami *Fusarium* spp.

The effectiveness of the mycoparasitic interaction between *Trichoderma koningiopsis* TkZ3A0 and *Fusarium culmorum* Fc37 under heavy metal stress (cadmium, lead and zinc)

Artur Nowak, Ewa Kowalska, Wiktoria Portka, Renata Tyśkiewicz, Jolanta Jaroszuk-Ścisel

Department of Industrial and Environmental Microbiology, Faculty of Biology and Biotechnology,
Maria Curie-Skłodowska University

artur.nowak@poczta.umcs.lublin.pl

Key words: mycoparasitism, phytopathogens, heavy metals, biotic effect

Fungi of the *Trichoderma* spp. are characterized by the ability to limit the growth of other fungi, including many phytopathogens. Through the involvement of such mechanisms as antagonism, antibiotics, mycoparasitism related to the mycolytic degradation by CWDE (*Cell Wall Degrading Enzymes*) and the induction of a plant defense response [1,2]. These mechanisms are the basis for the functioning of strains as active factors in biological plant protection preparations. Many of the extensively tested *Trichoderma* spp. strains have been used in commercial (e.g. in Rizocore and Trifender A containing strains of *T. asperellum* and *T. harzianum* species) plant biocontrol preparations against fungal phytopathogens. One of the most dangerous pathogens causing large losses in agriculture are *Fusarium* spp. Fungi acting in multispecies complexes, causing a number of diseases of monocotyledonous and dicotyledonous plants, especially cereals, such as root rot, seedling blight and FHB (*Fusarium Head Blight*) [3,4]. A new challenge is to create preparations that effectively combat phytopathogenic *Fusarium* spp. in conditions of environmental contamination with xenobiotics, including heavy metals. It is necessary to determine whether *Trichoderma* spp. strains, proven to be effective in limiting the growth of *Fusarium* spp. under non-contaminated conditions, will be effective in a contaminated environment. Biotic tests on various media showed a strong (93%) ability to limit the phytopathogenic growth of *F. culmorum* Fc37 by the mycoparasitic strain *T. koningiopsis* Tkz3A0 [2]. The aim of the study was to compare the biotic effect [5] between these strains and their colony growth rate in cultures without and with the addition of heavy metal ions Cd, Zn and Pb introduced at five concentrations of 2, 4, 6, 8, 10 µg/ml. The growth rate of the strains was determined on RB solid media with 1% glucose and 1% sucrose at three (12, 20 and 28°C) temperatures. It was found that the growth of the phytopathogenic *F. culmorum* strain Fc37 in the presence of heavy metals was more strongly inhibited than the growth of *T. koningiopsis* Tkz3A0. The growth of Fc37 was completely inhibited in the presence of 6 µg/ml Cd, to approx. 60% in the presence of 4 µg/ml Zn ions and to approx. 30% in the presence of 8 µg/ml Pb ions. The growth of the mycoparasitic strain Tkz3A0 was inhibited in about 50% of the presence of 6 µg/ml Cd and the same dose of Zn ions, and to about 40% in the presence of 8 µg/ml of Pb ions. Usually the strongest reduction was observed in sucrose medium and at an incubation temperature of 12°C. The *T. koningiopsis* Tkz3A0 strain was able to limit the growth of the *F. culmorum* Fc37 strain in the media (Martin, PDA, Czapek-Dox) with each of the tested metals. The total value of the biotic effect and the degree of Fc37 colony reduction in the absence of metal and in their presence were similar. However, at the temperature of 12°C and in the presence of Zn and Pb, the Tkz3A0 strain inhibited the growth of Fc37 by 10-20% less than in the media without the addition of metals.

Thus, it can be concluded that in the presence of heavy metals, a biological protection preparation containing *T. koningiopsis* would effectively protect plants against *Fusarium* spp.

1. Saravanakumar, K.; Yaqian, L.; Yu, C.; Wang, Q.Q.; Wang, M.; Sun, J.; Gao, J.X.; Chen, J. Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Biol. Control* **2016**, 94, 37–46.
2. Jaroszuk-Ścisel, J.; Tyśkiewicz, R.; Nowak, A.; Ozimek, E.; Majewska, M.; Hanaka, A.; Tyśkiewicz, K.; Pawlik, A.; Janusz, G. Phytohormones (Auxin, Gibberellin) and ACC deaminase in vitro synthesized by the mycoparasitic *Trichoderma* DEMTkZ3A0 strain and changes in the level of auxin and plant resistance markers in wheat seedlings inoculated with this strain conidia. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 4923
3. Jaroszuk-Ścisel, J.; Kurek, E. Hydrolysis of fungal and plant cell walls by enzymatic complexes from cultures of *Fusarium* isolates with different aggressiveness to rye (*Secale cereale*). *Arch. Microbiol.* **2012**, 194, 653–665.
4. Sharma, M.; Guleria, S.; Singh, K.; Chauhan, A.; Kulshrestha, S. Mycovirus associated hypovirulence, a potential method for biological control of *Fusarium* species. *Virusdisease* **2018**, 29, 134–140.

Role of mycotoxins and cell wall-degrading enzymes in *Fusarium* pathogenesis

Lakshmipriya Perincherry¹, Łukasz Stępień¹ and Agnieszka Waśkiewicz²

¹Department of Plant-Pathogen Interaction, Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences

²Department of Chemistry, Poznań University of Life Sciences

lper@igr.poznan.pl

Key words: CWDEs, fumonisins; *Fusarium*, plant–pathogen interaction

The pathogenic *Fusarium* fungi produce various mycotoxins and extracellular cell wall-degrading enzymes (CWDEs) that help them to weaken and invade the host successfully. The mycotoxin biosynthesis varies under different environmental conditions, such as pH, temperature, moisture content, nitrogen source and the host plant metabolites. It has been shown that the extracts from the resistant (Sokolik) and susceptible (Santana) pea cultivars could alter the toxin biosynthesis and even could limit the mycelial growth. The study involves two strains each of *Fusarium oxysporum* which predominantly produces moniliformin and cyclodepsipeptides, and *Fusarium proliferatum* which produces fumonisins. During the initial days after the addition of various carbon sources and pea extracts, the fungus showed increased activities of β -glucosidase, xylanase, exo-1,4-glucanase and lipase [1]. Increased activity of β -glucosidase after the addition of pea extracts indicates that it is one of the most synthesized enzyme for successful penetration in the host plant by these species. About 57% inhibition of the mycelial growth was found in the cultures of *F. proliferatum* strain PEA1 upon the addition of cv. Sokolik extract. The lowest fumonisin content was exhibited by the cultures supplemented with pea extracts and oat bran, and this can be associated to the secondary metabolites and antioxidants present in these substrates. It is evident that the metabolites in pea have a strong antifungal effect and could effectively reduce the amount of toxins produced, rather than being toxic to the pathogen.

1. Perincherry, L., Ajmi, C., Oueslati, S., Waśkiewicz, A., & Stępień, Ł. (2020). Induction of *Fusarium* Lytic Enzymes by Extracts from Resistant and Susceptible Cultivars of Pea (*Pisum sativum* L.). *Pathogens*, 9(11), 976.

Transport wertykalny i horyzontalny grzybów endofitycznych w pszenicy (*Triticum aestivum* L.)

Katarzyna Mikołajczak, Sylwia Salamon, Lidia Błaszczyk

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk

kmiko@igr.poznan.pl

słowa kluczowe: pszenica, endofity grzybowe, transport wertykalny, transport horyzontalny

Grzyby endofityczne to mikroorganizmy zasiedlające wewnętrzne tkanki roślin przez cały okres ich życia lub tylko przez pewien okres ich cyklu rozwojowego. Jednym ze sposobów klasyfikowania endofitów grzybowych jest ich sposób przemieszczania się pomiędzy roślinami tego samego pokolenia (horyzontalny) lub migracji do następnych pokoleń rośliny gospodarza (wertykalny) [1, 2]. Mikroorganizmy wertykalnie przenoszone są w nasionach. Grzyby przerastają stopniowo tkanki rośliny, by na końcu dostać się do organów rozmnażania generatywnego. Z drugiej strony endofity przenoszone horyzontalnie zasiedlają różne osobniki danej populacji [3].

Głównym celem prezentowanych badań było określenie sposobu przenoszenia się grzybów endogennych w pięciu odmianach pszenicy ozimej: Arkadia, Bamberka, Euforia, Legenda oraz Ostroga i w pięciu odmianach pszenicy jarej: Arabella, Bombona, Kandela, Rospuda i Rusałka. Ponadto podjęto próbę określenia sposobu transmisji (wertykalnej lub horyzontalnej) grzybów wyizolowanych z podziemnych i naziemnych części rośliny w warunkach laboratoryjnych.

Wykazano, że grzybami, które przenosiły się horyzontalnie były m.in. *Penicillium expansum* oraz *Fusarium proliferatum*. *F. proliferatum* był także najczęściej identyfikowanym grzybem zarówno w generacji roślin G0 jak i G1, co może świadczyć o zdolności tego gatunku również do wertykalnego sposobu przemieszczania się w roślinach pszenicy. Zjawisko wertykalnego sposobu migracji endofitów w tkankach roślinnych i pomiędzy generacjami zaobserwowano częściej w ozimych odmianach pszenicy.

1. Saikkonen, K., Ion, D., and Gyllenberg, M. (2002). The persistence of vertically transmitted fungi in grass metapopulations. *Proc. Biol. Sci.* 269, 1397–1403.
2. Rodriguez, R., White, J. Jr., Arnold, A., and Redman, R. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol.* 182, 314–330.
3. Shade, A.; Jacques, M.A.; Barret, M. Ecological patterns of seed microbiome diversity, transmission, and assembly. *Curr. Opin. Microbiol.* 2017, 37, 15–22.

Badania finansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, projekt OPUS 14, nr 2017/27/B/NZ9/01591, pt. Dynamika mykobiomu endosfery pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) i jej wpływ na wzrost i kondycję rośliny.

Vertical and horizontal transport of endophytic fungi in wheat (*Triticum aestivum* L.)

Katarzyna Mikołajczak, Sylwia Salamon, Lidia Blaszczyk

Institute of Plant Genetics of Polish Academy of Sciences, Poznań

kmiko@igr.poznan.pl

Key words: wheat, fungal endophytes, vertical transport, horizontal transport

Endophytic fungi are microorganisms that inhabit the internal tissues of plants throughout their life or only for a certain period of their development cycle. One way to classify fungal endophytes is how they move between plants of the same generation (horizontal) or migrate to the next generations of the host plant (vertical) [1,2]. The microorganisms are vertically transferred in the seeds. The fungi gradually overgrow the plant tissues to finally gain entry to the organs of generative reproduction. On the other hand, horizontally transferred endophytes colonize different individuals of a given population [3].

The main aim of the presented research was to determine the way of transmission of endogenous fungi in five winter wheat cultivars: Arkadia, Bamberka, Euforia, Legenda, and Ostroga, and in five spring wheat cultivars: Arabella, Bombona, Kandela, Rospuda, and Rusalka. Moreover, an attempt was made to determine the method of transmission (vertical or horizontal) of fungi isolated from the underground and above-ground parts of the plant under laboratory conditions.

It was shown that the horizontally transmitting fungi were, among others, *Penicillium expansum* and *Fusarium proliferatum*. *F. proliferatum* was also the most frequently identified fungus in both the G0 and G1 generation of plants, which may indicate the ability of this species to move vertically in wheat plants. The phenomenon of vertical endophyte migration in plant tissues and between generations was observed more often in winter wheat cultivars.

1. Saikkonen, K., Ion, D., and Gyllenberg, M. (2002). The persistence of vertically transmitted fungi in grass metapopulations. *Proc. Biol. Sci.* 269, 1397–1403.
2. Rodriguez, R., White, J. Jr., Arnold, A., and Redman, R. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol.* 182, 314–330.
3. Shade, A.; Jacques, M.A.; Barret, M. Ecological patterns of seed microbiome diversity, transmission, and assembly. *Curr. Opin. Microbiol.* 2017, 37, 15–22.

Research financed by the National Science Center, project OPUS 14, no. 2017/27/B/NZ9/01591

Analiza strukturalna i funkcjonalna zbiorowisk grzybów występujących na ekologicznych plantacjach truskawek

Dominika G. Malarczyk, Jacek Panek, Magdalena Frąć

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk

d.malarczyk@ipan.lublin.pl

Słowa kluczowe: sekwencjonowanie Illumina, metabarcoding, FUNGuild, truskawki ekologiczne

Uprawy ogrodnicze są zasiedlane przez wiele różnych grup mikroorganizmów, takich jak bakterie (Bacteria), archeony (Archaea), lęgniowce (Oomycota) lub grzyby mikroskopijne (micromycetes). Bez wątpienia grzyby te stanowią fundamentalną grupę mikroorganizmów wpływającą na cechy i strukturę gleby oraz na zdrowie roślin. Oddziaływania pomiędzy rośliną a zasiedlającą ją mykobiota są różnorodne i, oprócz negatywnego wpływu fitopatogenów, mogą polegać na udostępnianiu roślinie składników odżywczych z podłoża, łagodzeniu stresów środowiskowych czy wzmacnianiu odpowiedzi odpornościowej rośliny [1]. Rolnictwo ekologiczne cieszy się niesłabnącą popularnością, zwiększając swój obszar w latach 2012-2017 w Europie o 28%. Jednak wykluczenie chemicznych środków ochrony oraz roślin modyfikowanych genetycznie w tym typie upraw w Unii Europejskiej [2] utrudnia walkę z chorobotwórczymi wirusami, bakteriami czy grzybami. Odpowiednie modyfikowanie składu mikroorganizmów będących w najbliższej relacji z rośliną, otwiera możliwości zrównoważonego zwiększenia potencjału rolniczego roślin uprawnych na świecie.

Celem badań było określenie składu i różnorodności mykobiomu gleby, ryzosfery, korzeni oraz części nadziemnych truskawek uprawianych w sposób ekologiczny oraz przyporządkowanie grzybów tworzących warianty sekwencji ampliconu (ASV – Amplicon Sequence Variants) do pełnionych przez nie funkcji.

Przeprowadzona identyfikacja mykobiomu różnych typów próbek z wykorzystaniem markera molekularnego polegała na zsekwencjonowaniu fragmentu ITS1 (Internal transcribed spacer 1), będącego markerem wykorzystywanym do analizy zbiorowisk grzybów na podstawie ASV występujących w badanej próbce. Izolacja całkowitego DNA obecnego w pobranych próbkach została przeprowadzona zestawem EURx Gene MATRIX Soil DNA Purification Kit oraz homogenizatorem Fast-Prep-24 (6 m/s, 40 s). Do analizy bioinformatycznej użyto odczytów ze 166 próbek, zsekwencjonowanych aparatem Illumina MiSeq. Użyte do sekwencjonowania odczytów pozwoliły na odczyt 300 par zasad z każdej ze stron wybranej sekwencji. Wstępna analiza i obróbka wyników została przeprowadzona w środowisku QIIME2 [3], a do dalszych analiz zostało użyte narzędzie FUNGuild [4] oraz program RStudio v. 1.4.

Wstępne wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że zbiorowiska grzybowe różnych typów próbek (gleba pozaryzosferowa, gleba ryzosferowa, korzenie oraz części nadziemne roślin), pochodzących z ekologicznych plantacji truskawek, różnią się pod względem struktury i funkcjonalności. Największe podobieństwo w składzie procentowym zbiorowisk funkcjonalnych zidentyfikowanych organizmów grzybowych zaobserwowano pomiędzy próbkami gleby oraz ryzosfery.

1. Trivedi, P.; Leach, J.E.; Tringe, S.G.; Sa, T.; Singh, B.K. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020.
2. Komisja Europejska Rozporządzenie Komisji (WE) nr 889/2008 z dnia 5 września 2008 r. ustanawiające szczegółowe zasady wdrażania rozporządzenia Rady (WE) nr 834/2007 w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych w odniesieniu do produkcji ekologicznej, znakowania i kontroli. *Dz. Urzędowy Unii Eur.* 2021, 1–84.
3. Bolyen, E.; Rideout, J.R.; Dillon, M.R.; Bokulich, N.A.; Abnet, C.C.; Al-Ghalith, G.A.; Alexander, H.; Alm, E.J.; Arumugam, M.; Asnicar, F.; et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat. Biotechnol.* 2019, 37, 852–857.
4. Nguyen, N.H.; Song, Z.; Bates, S.T.; Branco, S.; Tedersoo, L.; Menke, J.; Schilling, J.S.; Kennedy, P.G. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecol.* 2016, 20, 241–248

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

Structural and functional analysis of fungal communities occurring in organic strawberry plantations

Dominika G. Malarczyk, Jacek Panek, Magdalena Frąć

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences

d.malarczyk@ipan.lublin.pl

Key words: Illumina sequencing, metabarcoding, FUNGuild, organic strawberries

Horticultural crops are colonized by many different groups of microorganisms, such as bacteria (Bacteria), archaea (Archaea), oomycetes (Oomycota) or microscopic fungi (micromycetes). Undoubtedly, these fungi are the fundamental group of microorganisms that influence soil characteristics and structure and plant health. The interactions between the plant and the mycobiome that inhabit it are diverse and, apart from the negative effects of phytopathogens, may involve transforming nutrients from the soil to be available to the plant, alleviating environmental stresses, or enhancing the plant's immune response [1]. Organic farming is steadily growing, increasing its area by 28% between 2012 and 2017 in Europe. However, the exclusion of chemical protection agents and genetically modified plants in this type of cultivation in the European Union [2] hinders the preservation of plants from pathogenic viruses, bacteria or fungi. Appropriate modification of the composition of microorganisms that are in the closest relationship with the plant, enables possibility for sustainable increase in the agricultural potential of crop plants worldwide.

The aim of the research was to determine the composition and diversity of the mycobiome of the bulk soil, rhizosphere, roots and shoots of organically grown strawberries and to assign the fungi forming the Amplicon Sequence Variants (ASV) to the ecological guilds.

The identification of mycobiome of different types of samples using a molecular marker was based on the sequencing of a fragment of ITS1 (Internal transcribed spacer 1), which is a marker used to analyse fungal communities on the basis of ASVs present in the studied sample. The study involved the determination of the composition of the mycobiome in samples of bulk soil, rhizosphere, roots and shoots of strawberry plants derived from organic plantations. DNA isolation of fungal organisms was performed with the EURx Gene MATRIX Soil DNA Purification Kit and a Fast-Prep-24 homogenizer (6 m/s, 40 s). For bioinformatic analysis, readings from 166 samples, sequenced with the Illumina MiSeq were used. The reagents used for sequencing allowed reads of 300 base pairs from each side of the selected genetic marker. Initial processing of the data was performed in the QIIME2 environment [2], and the FUNGuild tool [3] and the RStudio v. 1.4 program were used for further analysis.

Preliminary results of the conducted research revealed, that the fungal communities of various types of samples (bulk soil, rhizosphere, roots and shoots of strawberry plants), coming from organic strawberry plantations, differ in terms of structure and functionality. The greatest similarity in the percentage composition of functional communities of identified fungal organisms was observed between soil and rhizosphere samples.

1. Trivedi, P.; Leach, J.E.; Tringe, S.G.; Sa, T.; Singh, B.K. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020.
2. Commission Regulation (EC) No 889/2008 of 5 September 2008 laying down detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No 834/2007 on organic production and labelling of organic products with regard to organic production, labelling and control. *Journal of the Union Eur.* 2021, 1-84
3. Bolyen, E.; Rideout, J.R.; Dillon, M.R.; Bokulich, N.A.; Abnet, C.C.; Al-Ghalith, G.A.; Alexander, H.; Alm, E.J.; Arumugam, M.; Asnicar, F.; et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat. Biotechnol.* 2019, 37, 852–857.
4. Nguyen, N.H.; Song, Z.; Bates, S.T.; Branco, S.; Tedersoo, L.; Menke, J.; Schilling, J.S.; Kennedy, P.G. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecol.* 2016, 20, 241–248.

This paper was financed by The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR /2018

Mikrobiom roślin jako potencjalne narzędzie w ochronie gatunkowej

Krzysztof Stawrakakis¹, Marlena Lembicz¹, Paweł Olejniczak²

¹ Zakład Botaniki Systematycznej i Środowiskowej, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

²Instytut Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk

krzsta4@st.amu.edu.pl

Słowa kluczowe: endofity grzybowe, interakcje, introdukcja, ochrona przyrody,

Żaden organizm nie występuje sam. Przyroda to sieć interakcji biotycznych. Ostatnio dostarczono wiele nieznanych dotąd faktów, że endosymbionty, szczególnie grzyby, wpływają na kondycję roślin i mogą być dla niej ochroną przed innymi grzybami, wirusami, bakteriami i roślinożercami [1]. Dokonano również identyfikacji mikrobiomu w niektórych roślinach zagrożonych i endemicznych [2,3]. Wykazano różnice w dostosowaniu badanych roślin do układu występujących w nich mikroorganizmów, wskazując na interakcje, występujące między endofitami w obrębie rośliny, funkcjonującej jako siedlisko. Poznanie zatem efektów interakcji roślin z jej mikrobiomem jest niezbędne w celu opracowania skutecznej ochrony przyrody na różnych jej poziomach, od gatunku do ekosystemu.

Celem mojego referatu jest pokazanie, poprzez analizę wyników z ostatnich badań eksperymentalnych, możliwości wykorzystania endofitów grzybowych w ochronie przyrody, zwłaszcza ochronie gatunkowej [4]. W referacie przedstawię listę efektów fizjologicznych i ekologicznych interakcji roślin z endosymbiontami grzybowym które są szczególnie istotne, aby ochrona gatunku była skuteczna, czynniki abiotyczne i biotyczne, które wpływają na bilans zysków i strat dla obu partnerów interakcji oraz metodę manipulacji mikrobiomem w celu utrzymania gatunku rośliny w przyrodzie.

1. Rozpądek P, Wężowicz K, Nosek M, Ważny R, Tokarz K, Lembicz M, Miszański Z, Turnau K. 2015. The fungal endophyte *Epichloë typhina* improves photosynthesis efficiency of its host orchard grass (*Dactylis glomerata*). *Planta* 242: 1025-1035.
2. Górzyńska K., Węgrzyn E., Sandecki R., Lembicz M. 2019. Endophytic fungi and latent pathogens in the sedge *Carex secalina* (Cyperaceae), a critically endangered species in Europe. *Plant Protect. Sci.*, 55.
3. Węgrzyn E., Dominiak-Świgoń M., Górzyńska K., Chmiel J., Świtalski K., Lembicz M., 2020. Fungal microbiota in the seeds of the clonal plant *Iris sibirica* – a threatened species in Europe. *Sydowia* 72.
4. Arif I., Batool M., Schenk P., Plant Microbiome Engineering: Expected Benefits for Improved Crop Growth and Resilience. 2020 *Trends in Biotechnology*, 38(12)

Plant microbiome as a potential tool in species conservation

Krzysztof Stawrakakis¹, Marlena Lembicz¹, Paweł Olejniczak²

¹ Department of Systematics and Environmental Botany, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University in Poznań

² Institute of Nature Conservation, Polish Academy of Sciences

krzsta4@st.amu.edu.pl

Key words: fungal endophytes, interactions, introduction, nature conservation,

No organism exists in isolation. Nature is a network of biotic interactions. Recently, many unknown facts have been provided, supporting the hypothesis that endosymbionts, especially fungi, affect the condition of plants and may protect them against other fungi, viruses, bacteria, and herbivores [1]. The identification of the microbiome in some endangered and endemic plants has also been done [2,3]. Differences in studied plants' fitness depending on the composition of microorganisms present inside them have been demonstrated, indicating interactions between endophytes within a plant that acts as a habitat. Therefore, understanding the effects of plant interactions with its microbiome is essential to the development of effective nature conservation at its multiple levels, from species to an ecosystem.

My presentation aims are to show the potential of fungal endophytes in plant conservation especially species conservation, based on analysis of recent experimental studies results [4]. In this speech, I will present a list of physiological and ecological effects of plant interactions with fungal endosymbionts, which are particularly important for the species conservation to be effective, abiotic and biotic factors that affect the cost-profit balance for both partners and a method of manipulating the microbiome in order to preserve a given plant species in nature.

1. Rozpądek P, Wężowicz K, Nosek M, Ważny R, Tokarz K, Lembicz M, Miszański Z, Turnau K. 2015. The fungal endophyte *Epichloë typhina* improves photosynthesis efficiency of its host orchard grass (*Dactylis glomerata*). *Planta* 242: 1025-1035.
2. Górczyńska K., Węgrzyn E., Sandecki R., Lembicz M. 2019. Endophytic fungi and latent pathogens in the sedge *Carex secalina* (Cyperaceae), a critically endangered species in Europe. *Plant Protect. Sci.*, 55.
3. Węgrzyn E., Dominiak-Świgoń M., Górczyńska K., Chmiel J., Świtalski K., Lembicz M., 2020. Fungal microbiota in the seeds of the clonal plant *Iris sibirica* – a threatened species in Europe. *Sydowia* 72.
4. Arif I., Batool M., Schenk P., Plant Microbiome Engineering: Expected Benefits for Improved Crop Growth and Resilience. 2020 *Trends in Biotechnology*, 38(12)

Zróźnicowane działanie przeciwgrzybowe szczepów *Bacillus* wobec szczepu *Fusarium sambucinum*

Aleksandra Walaszczyk¹, Lidia Sas Paszt², Katarzyna Paraszkievicz³

¹Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

²Zakład Mikrobiologii Instytutu Ogrodnictwa

³Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

aleksandra.walaszczyk@edu.uni.lodz.pl

Słowa kluczowe: *Fusarium*, *Bacillus*, działanie przeciwgrzybowe

Choroby wywoływane rozwojem grzybów należą do jednych z najważniejszych przyczyn strat w rolnictwie i uprawie roślin ozdobnych. Obecnie podstawowym sposobem ograniczania wzrostu fitopatogennych grzybów jest stosowanie syntetycznych (wytwarzanych przez przemysł chemiczny) pestycydów. Alternatywą wobec syntetycznych fungicydów mogą być biopreparaty szczepów *Bacillus* - bakterii zdolnych do produkcji lipopeptydowych biosurfaktantów, związków charakteryzujących się jednocześnie aktywnością przeciwgrzybową oraz zdolnością do obniżania napięcia powierzchniowego [1-3].

Celem badań było porównanie działania przeciwgrzybowego szczepów *Bacillus* wyizolowanych z gleby ryzosferowej, charakteryzującej się niską zawartością grzybów strzępkowych.

W badaniu wykorzystano 40 szczepów bakterii z rodzaju *Bacillus* powodujących hemolizę krwi baraniej, wyizolowanych z gleby ryzosferowej pobranej z miejscowości Kolnica w województwie wielkopolskim oraz szczep grzyba strzępkowego *Fusarium sambucinum* IO2 wyizolowany z korzeni porażonej maliny (*Rubus idaeus*). Zdolność szczepów *Bacillus* do produkcji biosurfaktantów oceniano stosując test DCT (ang. *Drop Collapsing Test*). Aktywność przeciwgrzybową szczepów *Bacillus* badano hodując szczep grzybowy i bakteryjny w bezpośrednim sąsiedztwie na powierzchni podłoża stałego (ang. *Dual Culture Technique*); Drobnoustroje hodowano na podłożu stałym PDA (ang. *Potato Dextrose Agar*).

Stwierdzono, że wszystkie użyte w badaniu bakterie zdolne są do produkcji biosurfaktantów oraz formowania wokół kolonii strefy zahamowania wzrostu grzybni powierzchniowej. Wyznaczona aktywność przeciwgrzybowa (odnosząca się do inhibicji grzybni powierzchniowej) mieściła się, zależnie od szczepu *Bacillus*, w przedziale od 15 do 50%. Jednoczesne ograniczenie wzrostu grzybni powierzchniowej oraz powietrznej wyznaczono dla jedenastu szczepów *Bacillus*. Ponad połowa testowanych szczepów *Bacillus* dodatkowo hamowała rozwój grzybni w sposób polegający na kolonizacji powierzchni strzępek przez komórki bakteryjne. Proces ten skutkował uformowaniem się na powierzchni strzępek biofilmu bakteryjnego i stopniowym zanikiem komórek grzybni.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że szczepy *Bacillus*, wyizolowane z gleby ryzosferowej, charakteryzującej się niską zawartością grzybów strzępkowych ograniczają wzrost grzybni *Fusarium sambucinum* IO2 zarówno poprzez wytwarzanie metabolitów migrujących w środowisku wzrostu (biosurfaktanty i związki lotne) oraz poprzez kontakt fizyczny polegający na utworzeniu warstwy biofilmu bakteryjnego na powierzchni strzępek.

1. Deveau A., Bonito G., Uehling J. i in. 2018. Bacterial–fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(3), 335–352.
2. Caulier S., Nannan C., Gillis A., Licciardi F., Bragard C., Mahillon J. 2019. Overview of the Antimicrobial Compounds Produced by Members of the *Bacillus subtilis* Group. *Frontiers in Microbiology*, 10,
3. Su Y., Liu C., Fang H., Zhang D. 2020. *Bacillus subtilis*: A universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. *Microbial Cell Factories* 19, 173.

Various antifungal activities of *Bacillus* spp. strains against *Fusarium sambucinum*

Aleksandra Walaszczyk¹, Lidia Sas Paszt², Katarzyna Paraszkievicz³

¹Doctoral School of Exact and Natural Sciences, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz

²Department of Microbiology, Research Institute of Horticulture

³Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz

aleksandra.walaszczyk@edu.uni.lodz.pl

Key words: *Fusarium*, *Bacillus*, antifungal activity

One of the most prominent causes of agricultural loss are phytopathogenic fungi. Currently, the most used method of limiting the spread of plant diseases is the use of synthetically produced pesticides. *Bacillus* based antifungal products constitute a good alternative to traditionally used synthetic pesticides. *Bacillus* spp. owes its effectiveness in the control of several plant diseases to the production of lipopeptide biosurfactants (compounds characterized by their antifungal activity and an ability to lower the surface tension) [1, 2, 3].

The aim of the research was to compare the antifungal activity of *Bacillus* strains isolated from rhizospheric soil.

In the study, 40 different *Bacillus* strains able to hemolyze sheep blood were used. The strains were isolated from rhizospheric soil samples collected in Kolnica (a village located in the Greater Poland Voivodeship). Their antifungal activity was tested against a filamentous fungus *Fusarium sambucinum* IO2. The IO2 strain was isolated from the roots of the infected raspberry (*Rubus idaeus*).

Drop Collapsing Test was used to determine if given bacterial strain produces biosurfactants. The antifungal activity of *Bacillus* strains was tested using the Dual Culture technique. The microorganisms were grown on PDA medium (Potato Dextrose Agar).

These tests showed that all *Bacillus* strains used in the study are capable of producing biosurfactants and inhibiting growth of *F. sambucinum* IO2. The determined fungal growth inhibition ranged from 15 to 50%, depending on the used *Bacillus* strain. Eleven of the used *Bacillus* strains showed the ability to inhibit both surface and aerial mycelium growth. Additionally, more than half of the tested bacterial strains showed an ability to colonize the surface of the fungal hyphae. This process resulted in the formation of bacterial biofilm on the surface of the hyphae and the gradual degradation of mycelial cells.

These findings allow the conclusion, that the *Bacillus* strains isolated from the rhizospheric soil are able to limit mycelium growth of *Fusarium sambucinum* IO2. Their activity is caused by various metabolites they produce that are able to migrate through the growth medium (such as biosurfactants and volatile compounds) and by physical contact caused by formation of a bacterial biofilm layer on the surface of the hyphae.

1. Deveau A., Bonito G., Uehling J. i in. 2018. Bacterial–fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges. FEMS Microbiology Reviews, 42(3), 335–352.
2. Caulier S., Nannan C., Gillis A., Licciardi F., Bragard C., Mahillon J. 2019. Overview of the Antimicrobial Compounds Produced by Members of the *Bacillus subtilis* Group. Frontiers in Microbiology, 10,
3. Su Y., Liu C., Fang H., Zhang D. 2020. *Bacillus subtilis*: A universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. Microbial Cell Factories 19, 173.

Wpływ metabolitów *Trichoderma harzianum* na stres oksydacyjny *Fusarium culmorum*

Julia Mironenka, Przemysław Bernat, Sylwia Różalska

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

julia.mironenka@edu.uni.lodz.pl

Słowa kluczowe: *Trichoderma harzianum*, *Fusarium culmorum*, stres oksydacyjny

Grzyby z rodzaju *Fusarium* są jednym z głównych czynników chorobotwórczych pszenicy (*FHB* - *Fusarium Head Blight*) powodujących spadek plonu a także obniżenie jego jakości [1]. Grzyby z rodzaju *Fusarium* wytwarzają liczne toksyny, takie jak trichoteceny —deoksyniwalenol (DON) niwalenol (NIV) oraz zearalenon (ZEN), które mogą być toksyczne zarówno dla ludzi, jak i dla zwierząt [3]. Sposobem na redukcję zawartości mykotoksyn fuzaryjnych może być zmniejszenie zagrożenia porażenia upraw pszenicy przez *Fusarium* poprzez stosowanie fungicydów oraz metody agrotechniczne.

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* zasiedlają glebę i systemy korzeniowe roślin, wykazują działanie antagonistyczne względem innych grzybów, głównie patogenów roślin, takich jak – *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia* spp. i inne [4]. Konkuruje o składniki odżywcze, współzawodniczą dzięki zdolnościom do mykopasożytnictwa, antybiozy i wydzielaniu enzymów litycznych i metabolitów wtórnych [2].

Celem pracy było zbadanie wpływu ekstraktów zewnątrzkomórkowych metabolitów *T. harzianum* na wzrost płynnej hodowli *F. culmorum* i produkcję enzymów oksydo-redukcyjnych – katalazy (CAT – ang. *catalase*) i dysmutazy ponadtlenkowej (SOD – ang. *Superoxide dismutase*).

Metodyka obejmowała pomiar suchej masy z hodowli płynnej *F. culmorum* w równych odstępach czasowych oraz obserwacja zmian zachodzących w wytwarzaniu enzymów CAT i SOD przy użyciu metod spektrofotometrycznych.

W trakcie badań zauważono opóźnienie wzrostu *F. culmorum* w obecności metabolitów *T. harzianum*, a także obecność wyższego poziomu enzymów, wskazujących stres oksydacyjny zachodzący w badanej hodowli.

Wyniki otwierają nowe możliwości do dalszych badań z wykorzystania zewnątrzkomórkowych metabolitów *T. harzianum* na ograniczenie rozwoju grzybów z rodzaju *Fusarium*.

1. Mielniczuk E., Skwaryło-Bednarz B. 2020. *Fusarium* Head Blight, Mycotoxins and Strategies for Their Reduction. *Agronomy* 10 (4), 509. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040509>
2. Mukhopadhyay R., Kumar D. 2020. *Trichoderma*: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 30, 133. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00333-x>
3. Perincherry L., Lalak-Kańczugowska J., Stępień L. 2019. *Fusarium*-Produced Mycotoxins in Plant-Pathogen Interactions. *Toxins*, 11 (11), 664. <https://dx.doi.org/10.3390/toxins11110664>
4. Sood M., Kapoor D., Kumar V. Sheteiwy M.S., Ramakrishnan M., Landi M., Araniti F., Sharma A. 2020. *Trichoderma*: The “Secrets” of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants* 9, 762. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>

Effect of *Trichoderma harzianum* metabolites on the oxidative stress of *Fusarium culmorum*

Julia Mironenka, Przemysław Bernat, Sylwia Różalska

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

julia.mironenka@edu.uni.lodz.pl

Key words: *Trichoderma harzianum*, *Fusarium culmorum*, oxidative stress

Fusarium species are among the dangerous cereal pathogens (*FHB* - *Fusarium Head Blight*) leads to a significant reduction in the size and quality of grain yield [1]. *Fusarium* fungi produce numerous secondary metabolites, such as the deoxynivalenol (DON), nivalenol (NIV), zearalenone (ZEN) and fumosins B1, which can be dangerous to both humans and animals [3]. Different agrotechnical methods and the use of fungicides are effective ways to reduce the content of mycotoxins by limiting the development of *Fusarium* on wheat crops.

Genus *Trichoderma* is a soil inhabiting green filamentous fungus, show antagonistic activity against other fungi, mainly plant pathogens, such as – *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia* spp. and others [4]. The biocontrol potential of *Trichoderma* spp. is due to their complex interaction with plant pathogens either by parasitizing them, secreting antibiotics or by competing for space and nutrients [2].

The aim of the study was to investigate the effect of *T. harzianum* extracellular metabolites on the growth of *F. culmorum* liquid culture and the production of oxidation-reduction enzymes - catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD).

In the research, the measurement of dry mass from the liquid culture of *F. culmorum* was carried out and the changes occurring in the production of CAT and SOD enzymes, at equal time intervals, were observed, using spectrophotometric methods.

During the research, a delay in the growth of *F. culmorum* was noticed in the presence of *T. harzianum* metabolites, as well as the presence of a higher level of enzymes, indicating oxidative stress occurring in the studied culture.

The results open up new possibilities for further research on the use of extracellular metabolites of *T. harzianum* to limit the development of fungi of the genus *Fusarium*.

1. Mielniczuk E., Skwaryło-Bednarz B. 2020. *Fusarium* Head Blight, Mycotoxins and Strategies for Their Reduction. *Agronomy* 10 (4), 509. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040509>
2. Mukhopadhyay R., Kumar D. 2020. *Trichoderma*: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 30, 133. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00333-x>
3. Perincherry L., Lalak-Kańczugowska J., Stępień L. 2019. *Fusarium*-Produced Mycotoxins in Plant-Pathogen Interactions. *Toxins*, 11 (11), 664. <https://dx.doi.org/10.3390/toxins11110664>
4. Sood M., Kapoor D., Kumar V. Sheteiwy M.S., Ramakrishnan M., Landi M., Araniti F., Sharma A. 2020. *Trichoderma*: The “Secrets” of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants* 9, 762. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>

Zastosowanie plazmy niskotemperaturowej do eradykacji endofitów traw

Jean de Dieu Muhire¹, Dariusz Pańka²

¹Hodowla Roślin Grunwald Sp. z o.o. Grupa IHAR

²Katedra Biologii i Ochrony Roślin, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy

mujados88@gmail.com

Słowa kluczowe: życica trwała, *Epichloë*, zimna plazma

Trawy należą do roślin wykorzystywanych głównie w celach paszowych oraz na terenach rekreacyjnych. Są bardzo często zasiedlane przez symbiotyczne mikroorganizmy. Do najważniejszych należą arbuskularne grzyby mykoryzowe *Rhizophagus*spp. i *Glomus*spp. oraz endofity rodzaju *Epichloë*. Pierwsze dwa wnikają do korzeni i tam rozwijają się razem z rośliną. W glebie mogą przetrwać dzięki zarodnikom przetrwalnikowym. Natomiast, *Epichloë* spp. są wyspecjalizowanymi endosymbiontami rozwijającymi się wyłącznie w żywej roślinie, w jej nadziemnych partiach. Przenoszone są wertykalnie z nasionami traw lub horyzontalnie poprzez rozmnażanie wegetatywne. Obecność tych endofitów warunkuje wyższą odporność rośliny na liczne czynniki stresowe, zarówno biotyczne jak i abiotyczne. Asocjacje traw z endofitem charakteryzują się zazwyczaj wyższą trwałością w środowisku oraz są bardziej odporne na suszę i niedobory składników pokarmowych w glebie. Są także mniej podatne na porażenie przez patogeny oraz żerowanie szkodników. Trawy zasiedlone przez endofity mogą jednak stanowić zagrożenie dla zwierząt gospodarskich ze względu na produkcję szkodliwych toksyn. „Bezpieczne” asocjacje to takie, które są zasiedlone przez wyselekcjonowane endofity, tzw. novel endophytes. Wykorzystuje się je w procesie tworzenia symbiotycznie modyfikowanych traw. Wprowadzenie takich endofitów wymaga jednak wcześniejszego usunięcia szkodliwych, naturalnie występujących w odmianie uprawnej „dzikich” endosymbiontów. Proces eradykacji jest bardzo trudny i czasochłonny. Przeprowadza się go zazwyczaj z wykorzystaniem fungicydów lub wysokiej temperatury [1]. Dlatego też, celowe jest poszukiwanie nowych, bardziej efektywnych i bezpieczniejszych dla środowiska metod. W związku z tym rozpoczęto badania nad opracowaniem nowej technologii eradykacji endofitów traw z wykorzystaniem plazmy niskotemperaturowej [2]. Aktualnie, trwają prace nad optymalizacją parametrów pracy generatora plazmy, tj. mocy oraz czasu ekspozycji. Badania są prowadzone na życicy trwałej odmiany Bajka, którą tworzy 13 rodów. Nasiona poddane działaniu plazmy są wykładane na płytki Petriego z pożywką PDA oraz wysiewane do doniczek z substratem torfowym. Materiał nasienny oraz roślinny jest poddawany analizom mikroskopowym oraz molekularnym w celu określenia skuteczności zastosowanej metody. Wstępne wyniki wskazują na możliwość wykorzystania zimnej plazmy do eradykacji endofita życicy trwałej.

1. Williams M.J., Backman P.A., Clark E.M., White J.F., 1984. Seed treatments for control of the tall fescue endophyte *Acremonium coenophialum*. Plant Disease 68:49-52.
2. Misra N.N., Schlüter O., Cullen P.J. (Eds), 2016. Cold plasma in food and agriculture. Academic Press, pp. 380.

Prowadzone badania są częścią projektu pt. Wprowadzenie na rynek innowacyjnej odmiany życicy trwałej zasiedlonej przez symbiotyczne grzyby endofityczne” realizowanego przez konsorcjum NOVA TRAWA, w ramach działania M16 „Współpraca” koordynowanego przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa (Program Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014 – 2020).

The use of low-temperature plasma for the eradication of grass endophytes

Jean de Dieu Muhire¹, Dariusz Pańka²

¹Plant Breeding Grunwald Sp. z o.o. IHAR Group

²Department of Biology and Plant Protection, UTP University of Science and Technology

mujados88@gmail.com

Key words: perennial ryegrass, *Epichloë*, cold plasma

Grasses are plants used mainly for fodder purposes and in recreational areas. They are very often inhabited by symbiotic microorganisms. The most important are arbuscular mycorrhizal fungi *Rhizophagus* spp. and *Glomus* spp. as well as endophytes of the genus *Epichloë*. The first two penetrate the roots and develop there together with the plant. In soil, they can survive thanks to special spores. On the other hand, *Epichloë* spp. are specialized endosymbionts that grow exclusively inside the living plant, in its above-ground parts. They are transmitted vertically with grass seeds or horizontally by vegetative reproduction. The presence of these endophytes determines the plant's higher resistance to numerous stress factors, both biotic and abiotic. The associations of grasses with endophytes are usually more persistent in the environment and are more resistant to drought and soil nutrient deficiencies. They are also less susceptible to infection by pathogens and pest preying. However, grasses inhabited by endophytes can pose a threat to livestock due to the production of harmful toxins. "Safe" associations are those inhabited by selected endophytes, the so-called novel endophytes. They are used in the process of creating symbiotically modified grasses. However, the introduction of such endophytes to the plant requires prior removal of harmful, "wild" endosymbionts naturally occurring in the cultivar. The eradication process is very difficult and time-consuming. It is usually carried out with the use of fungicides or high temperature [1]. Therefore, it is purposeful to search for new, more effective, and environment friendly methods. So, research was started on the development of new technology for the eradication of grass endophytes using low-temperature plasma [2]. Currently, work is underway to optimize the operating parameters of the plasma generator, i.e. power and exposure time. The research is conducted on perennial ryegrass of the Bajka cultivar, which consists of 13 breeding lines. Plasma treated seeds are placed on Petri dishes with PDA (Potato Dextrose Agar) medium and also are sowed in pots filled with peat substrate. The seed and plant material are subjected to microscopic and molecular analyzes to determine the effectiveness of the method used. Preliminary results indicate the possibility of using cold plasma to eradicate the perennial ryegrass endophyte.

1. Williams M.J., Backman P.A., Clark E.M., White J.F., 1984. Seed treatments for control of the tall fescue endophyte *Acremonium coenophialum*. Plant Disease 68: 49-52.
2. Misra N.N., Schlüter O., Cullen P.J. (Eds), 2016. Cold plasma in food and agriculture. Academic Press, pp. 380.

The conducted research is a part of the project: Launching innovative cultivar of perennial ryegrass colonised by symbiotic endophytic fungi"implemented by the NOVA TRAWA consortium, under Action M16 "Cooperation" managed by the Agency for Restructuring and Modernisation of Agriculture (Rural Development Program for 2014-2020).

Transfer wertykalny endofitów grzybowych: identyfikacja w nasionach i roślinach dojrzałych maliny (*Rubus idaeus* L.)

Wojciech Wysoczański, Ewa Węgrzyn, Marlena Lembicz

Zakład Botaniki Systematycznej i Środowiskowej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

wojwys2@st.amu.edu.pl

Słowa kluczowe: Białowieża, detekcja molekularna, malina właściwa, mikrobiom, transfer wertykalny

Endofity grzybowe występują w prawie każdej roślinie i są obecnie wykorzystywane w rolnictwie - do ochrony i poprawy kondycji roślin poprzez stosowanie szczepionek grzybowych [1]. Skuteczność takiej szczepionki zależy, m.in. od sprawności transferu wertykalnego endofitów w roślinie.

W naszych badaniach sprawdzano obecność endofitów w roślinie uprawianej przez człowieka – malinie (*Rubus idaeus* L.). Identyfikowano endofity w liściach dojrzałych roślin oraz w nasionach z ich owoców i tym samym zbadano skuteczność transferu wertykalnego.

Uzyskane izolaty endofitów, hodowane na szalkach z pożywką PDA z antybiotykiem chloramfenikolem, zostały pogrupowane na morfotypy w oparciu o cechy makroskopowe, takie jak wygląd i kolor grzybni. Następnie izolaty reprezentujące poszczególne morfotypy były identyfikowane z użyciem markerów molekularnych ITS1 i ITS2 [2].

W nasionach malin pochodzących z owoców dojrzałych roślin nie stwierdzono grzybów endofitycznych. W liściach natomiast zidentyfikowano 27 taksonów endofitycznych grzybów. Wynik ten pokazuje niedoskonałość transferu wertykalnego endofitów z rośliny dojrzałej do jej nasion. Może to wynikać z faktu, że owoce maliny produkują związki, które hamują rozwój grzybów [3], zwłaszcza, że większość stwierdzonych endofitów w malinie to patogeny – jak grzyby z rodzaju *Aletrnaria* czy *Botrytis cinerea*.

1. Kauppinen, M., Saikkonen, K., Helander, M., Pirttilä, A. M, Wäli, P. R. (2016). *Epichloë* grass endophytes in sustainable agriculture. *Nature Plants*, 2, 15224.
2. Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 215(3), 403-410.
3. Vaughn, S. F., Spencer, G. F., Shasha, B. S. (1993). Volatile compounds from raspberry and strawberry fruit inhibit postharvest decay fungi. *Journal of Food Science*, 58(4), 793-796.

Vertical transfer of fungal endophytes: identification in seeds and mature plants of raspberry (*Rubus idaeus* L.)

Wojciech Wysoczański, Ewa Węgrzyn, Marlena Lembicz

Department of Systematic and Environmental Botany, Adam Mickiewicz University in Poznań

wojwys2@st.amu.edu.pl

Key words: Białowieża, microbiome, molecular detection, red raspberry, vertical transfer

Fungal endophytes are a solution in almost every plant and are now in the role - to protect and improve the health of plants through the use of fungal vaccines.[1]. The effectiveness of such a vaccine depends, among other factors, on the efficiency of vertical transfer of endophytes in the plant.

In our study, the presence of endophytes was checked in a cultivated plant, raspberry (*Rubus idaeus* L.). Endophytes in leaves of mature plants and in seeds from their fruits were identified, and thus the efficiency of vertical transfer was tested.

The obtained endophytic fungi, grown on PDA plates with the antibiotic chloramphenicol, were grouped into morphotypes based on macroscopic features such as the appearance and color of the mycelium. Then, fungi representing individual morphotypes were identified using the molecular markers ITS1 and ITS2 [2].

No endophytic fungi were found in raspberry seeds obtained from the fruits of mature plants. On the other hand, 27 taxa of endophytic fungi were identified in the leaves. This result shows the imperfection of vertical transfer of endophytes from a mature plant to its seeds. This may be due to the fact that fruits of raspberry produce compounds that inhibit the growth of fungi [3], especially since most of the endophytes found in raspberry are pathogens – such as fungi of the genus *Alternaria* or *Botrytis cinerea*.

1. Kauppinen, M., Saikkonen, K., Helander, M., Pirttilä, A. M, Wäli, P. R. (2016). *Epichloë* grass endophytes in sustainable agriculture. *Nature Plants*, 2, 15224.
2. Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 215(3), 403-410.
3. Vaughn, S. F., Spencer, G. F., Shasha, B. S. (1993). Volatile compounds from raspberry and strawberry fruit inhibit postharvest decay fungi. *Journal of food Science*, 58(4), 793-796.



POLSKIE TOWARZYSTWO
MYKOLOGICZNE



Grzyby patogeniczne

***Gibellula pulchra* i *Gibellula leiopus* - ekotypy czy gatunki**

Beniamin Abramczyk, Julia Pawłowska

Instytut Biologii Ewolucyjnej, Wydział Biologii, Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych, Uniwersytet Warszawski

b.abramczyk2@student.uw.edu.pl

słowa kluczowe: *Gibellula*, ekotyp, gatunek, żywiciel

Gibellula pulchra (Cavara, 1894) i *Gibellula leiopus* (Mains, 1950) to kosmopolityczne gatunki grzybów entomopatogenicznych atakujących pająki z rodzin Anyphaenidae, Agaelenidae, Corinnidae, Linyphiidae, Lycosidae i Salticidae. Oba zostały uznane za synonimy *Gibellula arachnophila* [1,2], jednak w wielu pracach są ciągle opisywane jako osobne gatunki. Różnią się od siebie morfologią konidioforów, zakresem atakowanych gospodarzy oraz siedliskiem, jakie ich gospodarze zajmują.

W rozróżnianiu gatunków grzybów pasożytniczych dużą rolę odgrywa specyficzność względem gospodarza. Można ją badać nie tylko pomiędzy gatunkami, ale także korelować z różnorodnością genetyczną pomiędzy szczepami tego samego gatunku. *G. pulchra* i *G. leiopus* hodowane *in vitro* na podłożu nie wytwarzają konidioforów, w związku z czym trudne jest wyhodowanie jednakowego genetycznie materiału zakaźnego. Stanowi to utrudnienie w badaniu specyficzności względem gospodarza w przypadku tych gatunków grzybów.

Celem prezentacji jest przedstawienie cech umożliwiających rozróżnianie *G. pulchra* i *G. leiopus* oraz omówienie specyficzności wobec gospodarza jako takiej cechy.

1. Koval E.Z. Klavitsipital'nye Griby SSSR (Kiev): 71 (1984)
2. Kobayasi Y., Shimizu D. *Torrubiella leiopus* Kew Bull. 31(3): 564 (1977)

***Gibellula pulchra* and *Gibellula leiopus* - ecotypes, or different species**

Beniamin Abramczyk, Julia Pawłowska

Institute of Evolutionary Biology, Faculty of Biology, Biological and Chemical Research Centre, University of Warsaw

b.abramczyk2@student.uw.edu.pl

Key words: *Gibellula*, ecotype, species, host

Gibellula pulchra (Cavara, 1894) and *Gibellula leiopus* (Mains, 1950) are widespread species of entomopathogenic fungi, which parasitise spiders, that belong to families Anyphaenidae, Agaelenidae, Corinnidae, Linyphiidae, Lycosidae and Salticidae. They were both synonymised to *Gibellula arachnophila* [1,2] but in many articles they are still described as different species. *G. pulchra* and *G. leiopus* can be distinguished by morphology of conidiophores, range of hosts and environment, which their hosts live in.

In differentiation of any pathogenic fungi host-specificity can be very useful. It can be examined not only regarding different species, but also in relation to genetic diversity among strains of one species. It is hard to study host-specificity of *G. pulchra* and *G. leiopus* because none of these species produces conidiophores when grown *in vitro* on medium. Consequently, it is hard to obtain genetically identical infectious material.

The aim of this presentation is to describe methods of differentiation between *G. pulchra* and *G. leiopus*. Host-specificity is also discussed as a possible method.

1. Koval E.Z. Klavitsipital'nye Griby SSSR (Kiev): 71 (1984)
2. Kobayasi Y., Shimizu D. *Torrubiella leiopus* Kew Bull. 31(3): 564 (1977)

Badanie odporności genotypów pszenżyta ozimego (*× Triticosecale* Wittmack) na porażenie przez *Fusarium culmorum* W.G. Smith

Adriana Twardawska, Jolanta Belter, Halina Wiśniewska

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk

atwa@igr.poznan.pl

Słowa kluczowe: *Fusarium culmorum*, fuzarioza kłosów, inokulacja, pszenżyto

Infekcja pszenżyta (*× Triticosecale* Wittmack) przez gatunki z rodzaju *Fusarium* stanowi jeden z głównych czynników prowadzących do obniżenia wielkości i jakości plonu [1]. W wyniku infekcji dochodzi do rozwoju fuzariozy kłosa, która objawia się porażeniem kłosa, uszkodzeniem ziarniaków, a także gromadzeniem się w ziarniakach szkodliwych dla ludzi i zwierząt mykotoksyn, takich jak niwalenol, deoksyniwalenol oraz zearalenon. W literaturze wyróżnia się pięć typów/komponentów odporności na fuzariozę kłosa [2], które oznaczane są w trakcie badań polowych z wykorzystaniem inokulacji kłosów. Głównym sposobem walki z patogenami roślin jest poszerzanie zmienności genetycznej zbóż oraz poszukiwanie genów odporności u gatunków blisko i daleko spokrewnionych. Jako źródła odporności wykorzystywana jest odmiana Sumai 3 i odmiany spokrewnione. Znany jest pochodzący z Sumai 3, gen *Fhb1* zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 3B [3], o dużym efekcie, kontrolujący odporność na fuzariozę kłosa oraz kumulację deoksyniwalenolu.

W 2020 roku, na polach doświadczalnych w Cerekwicy (52°31'16"N, 16°41'30"E) wykonano inokulację kłosów pszenżyta ozimego o zróżnicowanym podłożu genetycznym, zawieszając zarodników trzech izolatów *F. culmorum* (W.G. Smith). Oceniono indeks fuzariozy – porażenie kłosa oraz odporność na zasiedlanie ziarniaków przez *Fusarium* (masa i liczba ziarniaków z objawami fuzariozy) u genotypów pszenżyta charakteryzujących się obecnością genu *Fhb1* oraz genotypów nie wykazujących obecności tego genu.

Genotypy pszenżyta z genem *Fhb1* charakteryzowały się niższym porażeniem kłosa (średnio 1,96%, w zakresie od 1,6 do 2,1%) niż genotypy bez genu *Fhb1* (średnio 5,1%, w zakresie 1,0 do 18%). Średnia liczba uszkodzonych ziarniaków u genotypów z genem *Fhb1* również była niższa (7,2%) niż dla genotypów bez tego genu (20,4%). Podobne wartości odnotowano dla obniżenia masy ziarniaków z kłosa (6,4% – genotypy z genem *Fhb1*) oraz 14,9% dla genotypów bez genu *Fhb1*.

1. Arseniuk E., Góral T., 2015, *Triticale Biotic Stresses – Known and Novel Foes*, Triticale, ISBN 978-3-319-22550-0, doi: 10.1007/978-3-319-22551-7.
2. Mesterházy A., 1995, Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Breeding*, 114: 377-386, doi: 10.1111/j.1439-0523.1995.tb00816.x.
3. Liu, S., Pumphrey, M.O., Gill, B.S. *et al.*, 2008, Toward positional cloning of *Fhb1*, a major QTL for *Fusarium* head blight resistance in wheat., *Cereal Research Communications* 36, 195–201, doi:10.1556/CRC.36.2008.Suppl.B.15.

Evaluation of resistance in winter triticale genotypes (× *Triticosecale* Wittmack) to Fusarium Head Blight, caused by *Fusarium culmorum* W.G. Smith

Adriana Twardawska, Jolanta Belter, Halina Wiśniewska

Department of Gene Structure and Function, Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences

atwa@igr.poznan.pl

Key words: *Fusarium culmorum*, Fusarium Head Blight, inoculation, triticale

Triticale (× *Triticosecale* Wittmack) infection by the *Fusarium* species is one of the main factors which lead to the yield and quality crop reduction [1]. Due to the pathogen infection the Fusarium Head Blight (FHB) disease damages heads, kernels and leads to the accumulation of hazardous toxins like nivalenol, deoxynivalenol and zearalenon, which are detrimental for human and animal health. The literature distinguishes five types/components of resistance to *Fusarium* infection [2], which are analyzed under field conditions with the use of spike inoculation. The main way to overcome the problem with plant pathogens is the broadening of triticale genetic variability and research for the resistance genes in closely- and remotely-related species. As a *Fusarium* resistance resource the Sumai 3 variety and its related species are often used. The known source of resistance is *Fhb1* gene, characterized by large effectiveness and controlling of resistance to FHB and deoxynivalenol accumulation [3]. The gene originates from Sumai 3 variety and it is localized on the short arm of the 3B chromosome.

In 2020, at the experimental field in Cerekwica (52°31'16"N, 16°41'30"E) the inoculation of winter triticale genotypes with diverse genetic background was held with the use of three isolates of *F. culmorum* (W.G. Smith). The FHB severity and the resistance to *Fusarium*-kernel damage (weight and number of kernels with visible FHB symptoms) were evaluated in genotypes containing *Fhb1* gene and in the genotypes without this gene.

Triticale genotypes with *Fhb1* gene were characterized by lower FHB severity (mean 1,96%, in range of 1,6-2,1%) as compared to the genotypes without *Fhb1* gene (5,1% in a range of 1,0-18,0%). The mean number of *Fusarium*- kernel damage in genotypes with *Fhb1* was also lower (7,2%) than in genotypes without *Fhb1* gene (20,4%). Similar results were obtained for the weight of *Fusarium*-kernel damage (6,4% in genotypes with *Fhb1* gene) and 14,9% for genotypes without *Fhb1* gene.

1. Arseniuk E., Góral T., 2015, Triticale Biotic Stresses – Known and Novel Foes, Triticale, ISBN 978-3-319-22550-0, doi: 10.1007/978-3-319-22551-7.
2. Mesterházy A., 1995, Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. Plant Breeding, 114: 377-386, doi: 10.1111/j.1439-0523.1995.tb00816.x.
3. Liu, S., Pumphrey, M.O., Gill, B.S. *et al.*, 2008, Toward positional cloning of *Fhb1*, a major QTL for Fusarium head blight resistance in wheat., Cereal Research Communications 36, 195–201, doi:10.1556/CRC.36.2008.Suppl.B.15.

Kiedy substancje czynne do zaprawiania nasion znikają z rynku

Ewelina Sobolewska^{1,2}, Anna Otlewska¹, Anna Koziróg¹

¹*Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka*

²*Interdyscyplinarna Szkoła Doktorska Politechniki Łódzkiej*

ewelina.sobolewska@dokt.p.lodz.pl

Słowa kluczowe: bezpieczeństwo żywności, zaprawianie nasion, fungicydy

Zboża są podstawowym źródłem pożywienia dla dużej części populacji, dlatego też porażenie zbóż przez grzyby chorobotwórcze to częste zjawisko zagrażające bezpieczeństwu żywności. Ziarna zbóż mogą zostać zainfekowane przez grzyby w czasie upraw, zbiorów, przechowywania czy transportu. Zanieczyszczenia powstałe na każdym etapie produkcji, od producenta do konsumenta, prowadzą do zmniejszenia zarówno ilości, jak i jakości zbóż, a tym samym do ogromnych strat ekonomicznych na świecie [1,2].

Zaprawianie nasion może być skutecznym sposobem na poprawę zdolności kiełkowania, co w efekcie wpływa na wzrost roślin w każdym etapie ich rozwoju, a w konsekwencji na poziom plonowania. Obecnie, w rolnictwie często praktykowane jest chemiczne zaprawianie nasion przy użyciu fungicydów. Są to wieloskładnikowe mieszaniny zbudowane z kilku komponentów, których głównym składnikiem jest substancja czynna odpowiedzialna za właściwości przeciwgrzybowe [3].

W krajach Unii Europejskiej stosowane są substancje czynne, które są zaliczane do kilku grup chemicznych, m.in.: do triazoli, imidazoli, tiofianianów, anilinopirymidyn czy metyloakrylanów. Wiele preparatów zawiera dwie, a nawet trzy substancje aktywne, dzięki czemu uzyskuje się szersze spektrum działania pozwalające na zwalczanie wielu gatunków grzybów. Preparaty syntetyczne o określonych przepisami stężeniach pozwalają na uzyskanie wysokiej jakości i odpowiedniej ilości plonów, a tym samym zapewniają bezpieczeństwo żywności. Na terenie Unii Europejskiej w 2019 r. do ochrony pszenicy, kukurydzy oraz jęczmienia mogło być stosowanych 39 substancji czynnych fungicydów [4].

W obecnych czasach bardzo ważna jest ochrona środowiska, co prowadzi do ograniczenia stosowania wielu substancji czynnych zawartych również w fungicydach. Niebezpieczne pestycydy, w tym także związki przeciwgrzybowe są wycofywane z rynku przez *Komisję Europejską*, co wynika z ich toksyczności w stosunku do organizmów żywych i środowiska naturalnego. Spośród 39 substancji czynnych, 8 nie zostało zatwierdzonych przez Komisję Europejską i konieczne jest ich wycofanie w określonym czasie. Stosowanie substancji do zaprawiania nasion jest ważnym zabiegiem w ochronie roślin, ale istotne jest także używanie związków, które są jednocześnie bezpieczne dla środowiska i organizmów żywnych oraz pozwalają zapewnić bezpieczeństwo żywności [5].

Praca ta została ukończona, podczas gdy jej pierwszy autor był doktorantem w Interdyscyplinarnej Szkole Doktorskiej Politechniki Łódzkiej.

1. Oliveira, P. M., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2014). Cereal fungal infection, mycotoxins, and lactic acid bacteria mediated bioprotection: From crop farming to cereal products. *Food Microbiology*, 37, 78–95. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.003>
2. Sarrocco, S., Mauro, A., & Battilani, P. (2019). Use of competitive filamentous fungi as an alternative approach for mycotoxin risk reduction in staple cereals: State of art and future perspectives. *Toxins*, 11(12), 1–18. <https://doi.org/10.3390/toxins11120701>
3. Kaczmarek-Cichosz, R., & Chojnacki, J. (2010). Effectivity of semi-dry seeds dressing method with ecological plant protection agent. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 55(3), 147–151.
4. Rejestr Środków Ochrony Roślin, 2019. <https://tiny.pl/rnwhv>, dostęp: 30/10/2020
5. EU Pesticides Database, 2020. <https://tiny.pl/rnwqx>, dostęp: 30/12/2020

When the active compounds for seed treatment disappear from the market

Ewelina Sobolewska^{1,2}, Anna Otlewska¹, Anna Koziróg¹

¹*Institute of Fermentation Technology and Microbiology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences,
Lodz University of Technology*

²*Interdisciplinary Doctoral School at Lodz University of Technology*

ewelina.sobolewska@dokt.p.lodz.pl

Key words: food safety, seed treatment, fungicides

Infection of cereals by phytopathogenic fungi is a frequent phenomenon that threatens food safety, as cereals are the basic source of food for a large part of the population. Cereal grains can be infected by fungi during cultivation, harvesting, storage or transport. Contamination arising at each stage of production, from producer to consumer, leads to a reduction in both the quantity and quality of cereals, and thereby to huge economic losses worldwide [1,2].

Seed treatment can be an effective way to improve germination, which in turn affects the growth of plants at every stage of their development and, consequently, the yield. Chemical seed treatment with fungicides is now commonly applied in agriculture. They are multi-component mixtures, the main of which is the active substance responsible for antifungal properties [3].

In the European Union countries, active substances belonging to several chemical groups, including triazoles, imidazoles, thiophanates, anilino-pyrimidines and methoxy-acrylates have been applied. Moreover, preparations containing two or even three active substances are used to obtain a broader spectrum of activity, able to control many fungal species. Synthetic preparations with the concentrations specified in the regulations allow to obtain an appropriate amount of high-quality crops, and thus ensure food safety. In 2019, active substances of fungicides were used in the European Union 39 to protect wheat, maize and barley [4].

Nowadays, environmental protection is essential, which leads to the limitation in the use of many active substances including the fungicides. Dangerous pesticides, including antifungal compounds, are withdrawn from the market by the European Commission due to their toxicity to living organisms as well as the environment. Of the 39 active substances, 8 have not been approved by the European Commission and must be withdrawn within a certain time frame. The use of substances for seed treatment is an important procedure in plant protection, but it is also crucial to use compounds that are both safe for the environment, living organisms, and provide a safe food [5].

This work has been completed while the first author was the Doctoral Candidate in the Interdisciplinary Doctoral School at the Lodz University of Technology, Poland.

1. Oliveira, P. M., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2014). Cereal fungal infection, mycotoxins, and lactic acid bacteria mediated bioprotection: From crop farming to cereal products. *Food Microbiology*, 37, 78–95. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.003>
2. Sarrocco, S., Mauro, A., & Battilani, P. (2019). Use of competitive filamentous fungi as an alternative approach for mycotoxin risk reduction in staple cereals: State of art and future perspectives. *Toxins*, 11(12), 1–18. <https://doi.org/10.3390/toxins11120701>
3. Kaczmarek-Cichosz, R., & Chojnacki, J. (2010). Effectivity of semi-dry seeds dressing method with ecological plant protection agent. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 55(3), 147–151.
4. Rejestr Środków Ochrony Roślin, 2019. <https://tiny.pl/rnwhv>, access: 30/10/2020
5. EU Pesticides Database, 2020. <https://tiny.pl/rnwqx>, access: 30/12/2020

Wykorzystanie plazmy niskotemperaturowej do odkażania nasion soi (*Glycine max* (L.) Merr.)

Dominika Rymarz, Dariusz Pańka

Katedra Biologii i Ochrony Roślin, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy

dominika.rymarz@wp.pl

Słowa kluczowe: zimna plazma, mikroorganizmy, plon

Na przestrzeni ostatnich lat obserwuje się w Polsce rosnące zainteresowanie uprawą roślin bobowatych, w tym soi. Dużym problemem w uprawie tej rośliny jest występowanie chorób grzybowych, które w większości przenoszone są z nasionami [1]. Dlatego też, istotne jest zapewnienie wysokiej zdrowotności kwalifikowanego materiału siewnego, co bezpośrednio przyczynia się do zwiększenia plonowania. W kontekście strategii „Od pola do stołu”, w ramach Europejskiego Zielonego Ładu, konieczne jest poszukiwanie nowych, niechemicznych metod zwalczania patogenów roślin. Wysoki potencjał w tym obszarze posiada plazma niskotemperaturowa [2]. Odkazujące właściwości tego czynnika wynikają z synergicznego oddziaływania promieniowania ultrafioletowego, cząstek reaktywnych, jonów oraz elektronów na drobnoustroje. Zimna plazma może być także z dużą skutecznością stosowana do wyjaławiania materiałów pochodzenia biologicznego, wrażliwych na wysoką temperaturę [3].

Celem przeprowadzonych badań była ocena odkazającego działania plazmy niskotemperaturowej na drobnoustroje zasiedlające nasiona soi warzywnej. Do badań wykorzystano kwalifikowany materiał siewny odmian: Abelina, Annushka, Mavka i Violetta, uzyskany z firm Saatbau Polska, AgroYoumis oraz AgeSoya, z tego samego roku uprawy. Nasiona traktowano plazmą o mocy 400 i 600 W przez 30 i 60 sekund. Kontrolę stanowiły nasiona niepoddane działaniu plazmy. Nasiona wykładano na płytki Petriego z pożywką PDA (Potato Dextrose Agar), a następnie inkubowano w temperaturze 22°C, przez 7-10 dni. Uzyskane w ten sposób kultury mikroorganizmów poddano analizie ilościowej i jakościowej z wykorzystaniem powszechnie dostępnych kluczy mykologicznych.

Nasiona badanych odmian soi były zasiedlone głównie przez następujące rodzaje grzybów: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* oraz *Penicillium*. Zaobserwowano zróżnicowanie w porażeniu nasion poszczególnych odmian przez patogeniczne grzyby. Najwięcej kolonii grzybów izolowano z nasion odmian Abelina i Violetta. Przeprowadzone badania wykazały, iż wykorzystanie plazmy niskotemperaturowej znacząco przyczyniło się do inaktywacji *Fusarium* spp. i *Alternaria* spp. bytujących na nasionach soi. Z nasion odmiany Abelina, traktowanych plazmą przez 30 sekund w zakresach mocy 400 i 600 W, wyizolowano znacząco niższą liczbę kultur *Alternaria alternata* w porównaniu z kontrolą. W przypadku odmian Mavka i Violetta zastosowanie plazmy o mocy 400 W przez 30 i 60 sek. oraz 600 W przez 30 sek. istotnie hamowało wzrost grzybów rodzaju *Penicillium*.

Przeprowadzone badania potwierdzają możliwość zastosowania plazmy niskotemperaturowej do poprawy zdrowotności materiału siewnego soi.

1. Filoda G., Mrówczyński M., 2016. Metodyka integrowanej ochrony i produkcji soi dla doradców. Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Poznań.
2. Misra N.N., Schlüter O., Cullen P.J. (Eds), 2016. Cold plasma in food and agriculture. Academic Press, pp. 380.
3. Dzimitrowicz A., Jamróz P., Nowak P., 2015. Sterylizacja za pomocą niskotemperaturowej plazmy, generowanej w warunkach ciśnienia atmosferycznego. Post. Mikrobiol., 54, 2, 195–200.

Application of low temperature plasma for decontamination of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seeds

Dominika Rymarz, Dariusz Pańka

Department of Biology and Plant Protection, UTP University of Science and Technology in Bydgoszcz

dominika.rymarz@wp.pl

Key words: cold plasma, microorganisms, yield

In recent years, there has been a growing interest in the cultivation of legumes, including soybean, in Poland. A significant problem in the cultivation of this plant is the occurrence of fungal diseases, most of which are transmitted with seeds [2]. Therefore, it is important to ensure high healthiness of certified seeds, which directly contributes to increasing the yield. In the context of The Farm to Fork Strategy, under the European Green Deal, it is necessary to find new, non-chemical methods against plant pathogens. Low-temperature plasma has a high potential in this area [3]. The disinfecting properties of this factor result from the synergistic effect of UV-radiation, active molecules, ions and electrons on microorganisms. Cold plasma can be also effectively used to sterilize materials of biological origin, sensitive to high temperature [1].

The aim of the study was to evaluate the disinfecting effect of cold plasma on microorganisms inhabiting soybean seeds. Qualified seed material of the following varieties Abelina, Annushka, Mavka and Violetta, obtained from Saatbau Poland, AgroYoumis and AgeSoya companies, from the same year of cultivation, were used in this study. The seeds were treated with 400 and 600 W plasma power for 30 and 60 seconds. There were seeds not exposed to plasma in control variants. The seeds were placed on Petri dishes with PDA (Potato Dextrose Agar) medium and incubated at 22°C for 7-10 days. The grown cultures of microorganisms were subjected to quantitative and qualitative analyses with the use of commonly available mycological keys.

The soybean seeds of the studied cultivars were colonized mainly by the following genera of fungi: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*. There were differences in the infection of seeds of individual cultivars by pathogenic fungi. Most fungal colonies were isolated from seeds of Abelina and Violetta cultivars. The conducted research showed that the use of low-temperature plasma significantly contributed to the inactivation of *Fusarium* spp. and *Alternaria* spp. inhabiting the seeds. A significantly lower number of *Alternaria alternata* cultures was isolated from the seeds of cv. Abelina, treated with the 400 and 600 W plasma power for 30 seconds, compared to the control. In the case of cvs. Mavka and Violetta the use of 400 W of plasma power for 30 and 60 sec. and 600 W for 30 sec. significantly inhibited the growth of fungi of the genus *Penicillium*.

The conducted research confirms the possibility of using low-temperature plasma to improve the health of soybean.

1. Filoda G., Mrówczyński M., 2016. Metodyka integrowanej ochrony i produkcji soi dla doradców. [in Polish]. Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Poznań.
2. Misra N.N., Schlüter O., Cullen P.J. (Eds), 2016. Cold plasma in food and agriculture. Academic Press, pp. 380.
3. Dzimitrowicz A., Jamróz P., Nowak P., 2015. Sterylizacja za pomocą niskotemperaturowej plazmy, generowanej w warunkach ciśnienia atmosferycznego [in Polish]. Post. Mikrobiol., 54, 2, 195–200.

Suplementy diety w formie suszu roślinnego źródłem grzybów pleśniowych?

Iwona Altyn, Magdalena Twarużek

Katedra Fizjologii i Toksykologii, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy

iwonaalt@ukw.edu.pl

Słowa kluczowe: suplementy diety, zanieczyszczenia, grzyby pleśniowe

Zgodnie z ustawą z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z 2015 r. Poz. 594) suplement diety jest środkiem spożywczym, dlatego regulacje prawne są mniej restrykcyjne niż produktów farmaceutycznych. Obecny status prawny pozwala wprowadzić suplement diety na rynek każdemu podmiotowi, pod warunkiem, że zgłosi on jego skład organom sanitarnym (np. GIS). Raport NIK z 2017r. wykazał, że wiele suplementów nie wykazuje cech deklarowanych przez producentów i zawierają wiele niepożądanych zanieczyszczeń.

Celem badań było określenie ogólnej liczby grzybów pleśniowych z identyfikacją do rodzaju oraz składu mykobioty wyrażonej w procentach, w suplementach diety dostępnych w obrocie handlowym na terenie Polski. Materiał składał się z 7. grup suplementów diety na bazie: *Plantago psyllium* L. (n = 6), *Crataegus oxyacantha* L. (n = 16), *Lepidium meyenii* Walpers. (n = 16), *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (n = 13), pyłku pszczelego (n = 23), *Stevia rebaudiana* Bertoni (n=15) oraz *Epilobium parviflorum* L. (n = 23), które występowały w formie suszu roślinnego. Badanie mykologiczne przeprowadzono na podłożu YGC (ekstrakt drożdżowy, glukoza z dodatkiem chloramfenikolu). Wyniki ogólnej liczby grzybów pleśniowych wyrażono, jako liczbę jednostek tworzących kolonię (jtk) na gram próbki. Identyfikację uzyskanych kultur grzybów wykonano do rodzaju.

Analiza mykologiczna suplementów diety w formie suszu, wykazała znaczny poziom porażenia grzybami pleśniowymi, których średnia liczba wynosiła $3,3 \times 10^4$ jtk/g. Wśród wszystkich badanych prób tylko jedna, otrzymana ze stewii, nie była zanieczyszczona grzybami pleśniowymi. Najczęściej identyfikowanymi rodzajami pleśni były *Eurotium* spp. (39%), *Aspergillus* spp. (15%) i *Penicillium* spp. (10%). Najwyższą średnią ogólną liczbę grzybów pleśniowych wykryto w stewii ($6,4 \times 10^4$ jtk/g), natomiast najniższą wartość stwierdzono w suplementach diety na bazie korzenia maca ze średnią ogólną liczbą grzybów pleśniowych – 294 jtk/g.

Prowadzone badania potwierdzają występowanie grzybów pleśniowych w suplementach diety w formie suszu roślinnego. Producenci powinni brać pod uwagę i monitorować poziom zanieczyszczenia grzybami pleśniowymi w tego typu produktach.

1. Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z 2015 r., poz. 594)
2. Raport NIK. Dopuszczanie do obrotu suplementów diety. LLO.430.002.2016, Nr ewid. 195/2016/P/16/078/LLO

Dietary supplements based on dried plants as a source of moulds?

Iwona Altyn, Magdalena Twarużek

Department of Physiology and Toxicology, Faculty of Biological Sciences, Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz

iwonaalt@ukw.edu.pl

Key words: dietary supplements, contamination, moulds

According to the Polish Law of 25 August 2006 on food and nutrition safety (Journal of Laws of 2015, item 594), a dietary supplement is a foodstuff, therefore legal regulations are less restrictive than pharmaceutical products. The current legal status allows anyone to place a supplement on the market, provided they declare its composition to the sanitary authorities, in Poland it is the GIS, or the so-called Notification. The NIK report, from 2017 states that many supplements do not show features declared by producers.

The aim of this study was the total number of moulds with identification to the genus and composition of mycobiota expressed as a percentage in dietary supplements commercially available in Poland. The material consisted of 7 groups of dietary supplements based on dried plants: *Plantago psyllium* L. (n = 6), *Crataegus oxyacantha* L. (n = 16), *Lepidium meyenii* Walpers. (n = 16), *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (n = 13), bee pollen (n = 23), *Stevia rebaudiana* Bertoni (n=15) and *Epilobium parviflorum* L. (n = 23). Moulds and yeasts were determined using YGC medium (yeast extract, glucose and chloramphenicol). The results are expressed as the number of colony forming units (cfu) per gram of a sample. The identification of moulds was done to the genus.

The results of the mycological analysis of all dried dietary supplements showed a significant levels of moulds with the an average of $3,3 \times 10^4$ cfu/g. Among all the tested samples, only one, obtained from stevia, was not contaminated with mould. The most frequently identified moulds were *Eurotium* spp. (39%), *Aspergillus* spp. (15%) and *Penicillium* spp. (10%). The highest average of total number of moulds was found in stevia ($6,4 \times 10^4$ cfu/g), while the lowest value was found in maca root with an average total number of moulds content of 294 cfu/g.

The results confirm contamination of moulds in dried dietary supplements. Based on our results, it is recommended that producers of dietary supplements should include mycological analysis in product quality control.

1. Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z 2015 r., poz. 594)
2. Raport NIK. Dopuszczanie do obrotu suplementów diety. LLO.430.002.2016, Nr ewid. 195/2016/P/16/078/LLO



POLSKIE TOWARZYSTWO
MYKOLOGICZNE



Genetyka i genomika

Różnorodność, filogeneza i wydzielenie gatunków w rodzaju *Umbelopsis* (Mucoromycota)

Zuzanna Blocka, Dorota Wiktorowicz, Aleksandra Gęsiorska

Instytut Biologii Ewolucyjnej, Wydział Biologii, Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych, Uniwersytet Warszawski

z.blocka@student.uw.edu.pl

Słowa kluczowe: grzyby, filogeneza, markery molekularne, „genetyczny kod kreskowy”

Przedstawiciele rodzaju *Umbelopsis* są klasyfikowani w obrębie rzędu Umbelopsidales, typu Mucoromycota. Jego nazwa została po raz pierwszy opublikowana w 1966 roku, ale większość obecnie klasyfikowanych w nim gatunków została przeniesiona z rodzaju *Mortierella* w 2003 roku [1]. Mimo to, relacje filogenetyczne w obrębie rzędu ciągle są słabo poznane.

Kiedy po raz pierwszy opisywano ten rodzaj, dla większości gatunków brakowało kultury szczepu typowego, z którym można by było porównywać nowe izolaty. Ponadto, wiele kultur w kolekcjach zostało źle przypisanych do gatunku, co komplikuje interpretację uzyskanych drzew filogenetycznych. Co więcej, uzyskano mało danych molekularnych wysokiej jakości. Istnieją też trudności w znalezieniu markerów molekularnych, które pozwolą rozróżnić izolaty z dobrą rozdzielczością na poziomie gatunku. W ostatnich latach pojawiły się próby rozwiązania tego problemu. Zespół pod kierunkiem dr Ya-Ning Wang z Chinese Academy of Sciences podczas opisywania nowego gatunku należącego do *Umbelopsis*, otrzymał wiele nowych sekwencji i zaproponował nową cechę diagnostyczną: maksymalne temperatury wzrostu [2, 3]. Na koniec, dla wielu gatunków istnieją tylko jeden czy dwa blisko ze sobą spokrewnione szczepy, co sprawia, że niemożliwe jest określenie, czy zaproponowana dla takiego gatunku morfologia opisuje spójną filogenetycznie grupę.

Celem naszych badań było poznanie filogenezy *Umbelopsis*. Otrzymałyśmy 65 izolatów *Umbelopsis* z gleb czystych oraz zanieczyszczonych związkami pochodzenia antropogenicznego, pochodzących z różnych stanowisk w Europie i Ameryce Północnej. Otrzymano i przyrównano algorytmem Mafft sekwencje ITS i *act-1* dla badanych izolatów z sekwencjami dla większości szczepów *Umbelopsis*, pobranych z bazy GenBank. Obliczono za pomocą programu RAxML-ng drzewa filogenetyczne metodą największej wiarygodności, wykorzystując partycjonowane przyrównania zawierające sekwencje dla wielu markerów. Dla wszystkich badanych szczepów przeprowadzono obserwacje morfologiczne oraz pomiary maksymalnych temperatur wzrostu. Ewolucja tych cech została prześledzona na uzyskanym drzewie filogenetycznym.

Nasze analizy pokazały, że szczepy *Umbelopsis* klasyfikują się w obrębie dziesięciu różnych kładów. Mimo to, pozycja wielu gatunków dalej pozostaje do rozstrzygnięcia. Dalsze badania obejmą użycie w analizie większej liczby markerów molekularnych.

1. Meyer, W. & Gams, W. (2003). Delimitation of *Umbelopsis* (Mucorales, Umbelopsidaceae fam. nov.) based on ITS sequence and RFLP data. *Mycological Research*, 107 (3): 339–350. <https://doi.org/10.1017/S0953756203007226>
2. Wang, Y.-N., Liu, X.-Y., & Zheng, R.-Y. (2014). *Umbelopsis changbaiensis* sp. Nov. From China and the typification of *Mortierella vinacea*. *Mycological Progress*, 13(3), 657–669. <https://doi.org/10.1007/s11557-013-0948-9>
3. Wang, Y.-N., Liu, X.-Y., & Zheng, R.-Y. (2015). *Umbelopsis longicollis* comb. nov. and the synonymy of *U. roseonana* and *U. versiformis* with *U. nana*. *Mycologia*, 107(5), 1023–1032. <https://doi.org/10.3852/14-339>

Diversity, phylogeny and species delimitation in the genus *Umbelopsis* (Mucoromycota)

Zuzanna Blocka, Dorota Wiktorowicz, Aleksandra Gęsiorska

Institute of Evolutionary Biology, Faculty of Biology, Biological and Chemical Research Centre, University of Warsaw

z.blocka@student.uw.edu.pl

Key words: fungi, phylogeny, molecular markers, barcoding

Umbelopsis is a genus of fungi in the order Umbelopsidales, phylum Mucoromycota. The name was first published in 1966, but the majority of species currently classified within it were moved from the genus *Mortierella* in 2003 [1]. However, the phylogeny of the whole genus is still not resolved, mainly for the following reasons:

When the genus was first being described, most *Umbelopsis* species lacked a culture of type strain with which to compare new isolates. Additionally, it has been noticed that many strains in culture collections are wrongly assigned, which complicates the interpretation of obtained phylogenies. Furthermore, the molecular data obtained was scarce and often of poor quality. It has also been difficult to find molecular markers that will differentiate these species with good resolution at species level. There have been efforts in recent years to rectify this, especially by a group led by Dr. Ya-Ning Wang from the Chinese Academy of Sciences. While describing a new species within *Umbelopsis*, this group obtained many additional sequences and also proposed a new diagnostic criterion: maximum growth temperatures [2, 3]. Lastly, for many species there exist only one or two very closely related strains, which makes it impossible to decide whether the morphology proposed describes a phylogenetically cohesive group.

The goal of this project was to resolve *Umbelopsis* phylogeny. We have obtained 65 isolates of *Umbelopsis* from clean and anthropogenically contaminated soils in different localities in Europe and North America. ITS and *act-1* sequences for our isolates were obtained and aligned using Mafft algorithm with sequences for most *Umbelopsis* strains, retrieved from the GenBank database. Maximum likelihood phylogenetic trees from partitioned alignments containing sequences for multiple markers were calculated using RAxML-ng. Data on the morphology and maximum growth temperatures of different species of *Umbelopsis* were also mapped on this phylogenetic tree.

Our analyses showed that *Umbelopsis* species fall into ten distinguishable clades. However, many species' position within this genus still remains to be resolved. Further study will involve using more molecular markers.

1. Meyer, W. & Gams, W. (2003). Delimitation of *Umbelopsis* (Mucorales, Umbelopsidaceae fam. nov.) based on ITS sequence and RFLP data. *Mycological Research*, 107 (3): 339–350. <https://doi.org/10.1017/S0953756203007226>
2. Wang, Y.-N., Liu, X.-Y., & Zheng, R.-Y. (2014). *Umbelopsis changbaiensis* sp. Nov. From China and the typification of *Mortierella vinacea*. *Mycological Progress*, 13(3), 657–669. <https://doi.org/10.1007/s11557-013-0948-9>
3. Wang, Y.-N., Liu, X.-Y., & Zheng, R.-Y. (2015). *Umbelopsis longicollis* comb. Nov. And the synonymy of *U. roseonana* and *U. versiformis* with *U. nana*. *Mycologia*, 107(5), 1023–1032. <https://doi.org/10.3852/14-339>

Różnorodność genetyczna polskich szczepów *Beauveria bassiana*

Szymon Ławicki, Beniamin Abramczyk, Joanna Matuska-Lyżwa, Cezary Tkaczuk, Marta Wrzosek, Julia Pawłowska, Alicja Okraśńska

Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

s.lawicki@student.uw.edu.pl

Słowa kluczowe: *Beauveria*, filogeneza, różnorodność, pokrewieństwa

Beauveria bassiana (Bals.-Criv.) Vuill. jest kosmopolitycznym grzybem występującym na całym świecie jako pasożyt wielu grup owadów, lub endosymbiont niektórych roślin. Cechuje go silna zmienność wewnątrzgatunkowa, jednak niewiele wiadomo o czynnikach, które tę zmienność warunkują. W celu poznania zakresu zmienności genetycznej polskich populacji *B. bassiana* oraz ich związku z zaproponowanymi gatunkami kryptycznymi [1] przeprowadzono analizę szczepów pochodzących z 3 siedlisk, z 26 stanowisk w całej Polsce. Z pozyskanych ze środowiska grzybów wyizolowano DNA genomowe, zamplifikowano i zsekwencjonowano marker *Blocus*. Różnorodność polskiej populacji *B. bassiana* okazała się niewielka i niezwiązana z siedliskiem, ale wyniki wskazują, że część szczepów z Polski jest bliżej spokrewniona z grzybami spoza Europy.

Celem naszej pracy jest ponowne przeanalizowanie danych zebranych w ramach tego projektu, uwzględniając większą liczbę markerów molekularnych oraz dane z badań opublikowanych w ciągu ostatnich dziesięciu lat poprzez zaangażowanie większych zasobów obliczeniowych. Poza sekwencjami *Blocus* z baz danych pobraliśmy także sekwencje markerów *EF1a* oraz *ITS*. Drzewa filogenetyczne zostały sporządzone w programie RAxML z uwzględnieniem metody największego prawdopodobieństwa (maximum likelihood). Przewidujemy, że uzyskane wyniki będą bardziej wiarygodnie oddawać pokrewieństwo polskich szczepów *B. bassiana* względem europejskich i innych kontynentalnych kładów.

1. Rehner, Steve & Aquino de Muro, Marilena & Bischoff, Joseph. (2006). Description and phylogenetic placement of *Beauveria malawiensis* sp. nov. (Clavicipitaceae, Hypocreales). Mycotaxon. 98. 137-145.
2. Rehner, Steve & Buckley, Ellen. (2005). A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1 sequences: Evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. Mycologia. 97. 84-98. 10.3852/mycologia.97.1.84.
3. Rehner, Steve & Minnis, Andrew & Sung, Gi-Ho & Luangsa-Ard, Janet & Devotto, Luis. (2011). Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. Mycologia. 103. 1055-73. 10.3852/10-302.

Projekt był częściowo finansowany z grantu MNiSzW nr NN304418633: „Ocena bioróżnorodności nicieni oraz grzybów entomopatogenicznych występujących w naturalnych ekosystemach Polski”, którego kierownikiem była dr Joanna Matuska-Lyżwa.

Genetic diversity of *Beauveria bassiana* strains from Poland

Szymon Ławicki, Beniamin Abramczyk, Joanna Matuska-Lyżwa, Cezary Tkaczuk, Marta Wrzosek, Julia Pawłowska, Alicja Okraśińska

Faculty of Biology, University of Warsaw

s.lawicki@student.uw.edu.pl

Key words: *Beauveria*, phylogenetics, diversity

Beauveria bassiana (Bals.-Criv.) Vuill. is a cosmopolitic fungus found all around the world as a parasite of many insects groups, or endosymbiont of some plants species. It is characterised by strong intraspecific genetic variation of unknown origin. For better recognition of those variables and their connection with proposed cryptic species [1] an analysis was conducted. Strains have been collected from 3 types of habitats from 26 places around Poland. Total DNA has been extracted from collected samples and *Blocus* marker has been amplified and sequenced. Genetic diversity of Polish population of *B. bassiana* was limited and not connected with a habitat. However, the results show, that some of Polish strains are related to non-European fungi more closely.

The aim of our work is to re-analyze data collected for this project, taking into consideration the other molecular markers, data from studies published during last ten years and with the use of more computing resources. From databases we downloaded not only sequences of *Blocus* marker, but *EF1a* and *ITS* as well. Phylogenetic trees were generated using RAxML program with maximum likelihood method. We expect, that our results will more reliably show connection between Polish *B. bassiana* strains and European and other continental clades.

1. Rehner, Steve & Aquino de Muro, Marilena & Bischoff, Joseph. (2006). Description and phylogenetic placement of *Beauveria malawiensis* sp. nov. (Clavicipitaceae, Hypocreales). Mycotaxon. 98. 137-145.
2. Rehner, Steve & Buckley, Ellen. (2005). A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1 sequences: Evidence for cryptic diversification and links to Cordyceps teleomorphs. Mycologia. 97. 84-98. 10.3852/mycologia.97.1.84.
3. Rehner, Steve & Minnis, Andrew & Sung, Gi-Ho & Luangsa-Ard, Janet & Devotto, Luis. (2011). Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. Mycologia. 103. 1055-73. 10.3852/10-302.

Project was partially sponsored by MNiSzW grant no. NN304418633: „Ocena bioróżnorodności nicieni oraz grzybów entomopatogenicznych występujących w naturalnych ekosystemach Polski” under dr Joanna Matuska-Lyżwa’s leadership.

Genetyczna i morfologiczna zmienność *Didymium nivicola* Meyl. – różnorodność wewnątrzgatunkowa i globalne wzorce biogeograficzne śluzowców przyśnieżnych

Paulina Janik¹, Carlos Lado², Anna Ronikier¹

¹ Instytut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk

² Królewski Ogród Botaniczny, CSIC, Hiszpania

p.janik@botany.pl

Słowa kluczowe: Myxogastria, rozmieszczenie, SSU, EF1A, gatunki przyśnieżne

Śluzowce przyśnieżne są wyspecjalizowaną grupą organizmów grzybopodobnych, która charakteryzuje się ściśle określoną niszą ekologiczną. Tworzą one zarodnie przy granicy topniejącej pokrywy śniegowej późną wiosną i wczesnym latem, stanowiąc ważny komponent ekosystemów górskich [1, 2]. Globalne wzorce rozmieszczenia i różnorodność tych organizmów pozostają wciąż jednak słabo poznane. W niniejszej pracy zbadano zakres zmienności wewnątrzgatunkowej oraz strukturę biogeograficzną gatunku *Didymium nivicola* Meyl. W oparciu o wyczerpujące próbkowanie, obejmujące cały znany zakres rozmieszczenia gatunku, oszacowano różnorodność genetyczną przy użyciu analiz filogenetycznych sekwencji nukleotydowych dwóch markerów molekularnych (fragment SSU i EF1A) oraz różnorodność morfologiczną za pomocą analiz morfometrycznych dwunastu wybranych cech taksonomicznych. Uzyskane wyniki wykazały, że dwa główne obszary występowania gatunku prezentują odmienne wzorce filogeograficzne. Populacje z półkuli południowej charakteryzują się wysoką różnorodnością genetyczną (17 rybotypów SSU oraz 12 genotypów EF1A), natomiast te występujące na półkuli północnej – są jednolite genetycznie (identyczne sekwencje nukleotydowe obydwu regionów u wszystkich osobników) [3]. Zaobserwowany wzorzec rozmieszczenia jest prawdopodobnie efektem transportu propagul z półkuli południowej na północną i nielimitowanej dyspersji dalekiego zasięgu na półkuli północnej, co może wiązać się z ze zmianą strategii reprodukcyjnej na rozmnażanie bezpłciowe. Uzyskane dane wskazują, że południowa część Andów stanowi prawdopodobnie centrum różnicowania badanego gatunku [3]. W rezultacie integratywnego podejścia łączącego dane molekularne i morfologiczne opisano również nowy gatunek – *Didymium pseudonivicola* Janik, A. Ronikier & Lado [4]. Podczas gdy *D. nivicola* jest rozprzestrzeniony na całej kuli ziemskiej, *D. pseudonivicola* stwierdzono jedynie na południu Andów, na obszarze Argentyny i Chile [4].

1. Lado C. 2004. Nivicolous myxomycetes of the Iberian Peninsula: considerations on species richness and ecological requirements. *Systematics and Geography of Plants* 74:143– 157.
2. Ronikier A, Ronikier M. 2009. How 'alpine' are nivicolous myxomycetes? A worldwide assessment of altitudinal distribution. *Mycologia* 101(1):1–16.
3. Janik P, Lado C, Ronikier A. 2020. Range-wide phylogeography of a nivicolous protist *Didymium nivicola* Meyl. (Myxomycetes, Amoebozoa): striking contrasts between the Northern and the Southern Hemisphere. *Protist* 171:125771.
4. Janik P, Szczepaniak M, Lado C, Ronikier A. 2021. *Didymium pseudonivicola* – a new myxomycete from the austral Andes emerges from the broad-scale morphometric and molecular analyses of *D. nivicola* collections. *Mycologia*, w recenzji.

Genetic and morphological variability of *Didymium nivicola* Meyl. – intraspecific diversity and global biogeographic patterns of nivicolous myxomycetes

Paulina Janik¹, Carlos Lado², Anna Ronikier¹

¹ W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences

² Real Jardín Botánico, CSIC, Spain

p.janik@botany.pl

Key words: Myxogastria; distribution, SSU; EF1A; nivicolous species

Nivicolous myxomycetes are a specialized group of fungus-like organisms circumscribed by their strictly defined ecological niche. They form fruiting bodies at the edge of melting snow cover at late spring and early summer and appear as an important component of mountainous ecosystems [1, 2]. Still however, global patterns of occurrence and diversity of these organisms remain highly understudied and unexplored. In this study, we investigated the level of intraspecific variability and biogeographic structure of *Didymium nivicola* Meyl.. Based on an exhaustive sampling, spanning the entire known distribution range, we assessed its genetic diversity using phylogenetic analyses of nucleotide sequences of two molecular markers (partial SSU and EF1A) and morphological diversity using morphometric analyses of twelve preselected taxonomic characters. Our results revealed that two main parts of the species' range display contrasting phylogeographical patterns, with high genetic diversity in the Southern Hemisphere (17 SSU and 12 EF1A variants identified) and genetic uniformity across the Northern Hemisphere (single genotype) [3]. The observed distribution pattern is likely a result of a dispersal event from the Southern Hemisphere and subsequent long-distance dispersal (LDD) within the Northern Hemisphere that might be associated with a shift to asexual mode of reproduction. Our data also indicate the austral Andes as a possible diversification centre for studied species [3]. As a result of an integrated approach combining molecular and morphological data, a new nivicolous myxomycete – *Didymium pseudonivicola* Janik, A. Ronikier & Lado has also been described [4]. While *D. nivicola* is a species distributed worldwide, *D. pseudonivicola* occurs only in the austral Andes of Argentina and Chile [4].

1. Lado C. 2004. Nivicolous myxomycetes of the Iberian Peninsula: considerations on species richness and ecological requirements. *Systematics and Geography of Plants* 74:143– 157.
2. Ronikier A, Ronikier M. 2009. How 'alpine' are nivicolous myxomycetes? A worldwide assessment of altitudinal distribution. *Mycologia* 101(1):1–16.
3. Janik P, Lado C, Ronikier A. 2020. Range-wide phylogeography of a nivicolous protist *Didymium nivicola* Meyl. (Myxomycetes, Amoebozoa): striking contrasts between the Northern and the Southern Hemisphere. *Protist* 171:125771.
4. Janik, P, Szczepaniak, M, Lado, C, Ronikier, A. 2021. *Didymium pseudonivicola* – a new myxomycete from the austral Andes emerges from the broad-scale morphometric and molecular analyses of *D. nivicola* collections. *Mycologia*, under review.

Wpływ ergosterolu na parametry błony komórkowej i kompozycję ściany komórkowej *Candida albicans*

Daria Derkacz¹, Przemysław Bernat², Anna Krasowska¹

¹Zakład Biotransformacji, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski

²Zakład Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

daria.derkacz@uwr.edu.pl

Słowa kluczowe: *Candida albicans*, ergosterol, błona komórkowa, ściana komórkowa

Candida albicans (C.P. Robin) Berkhout to oportunistyczny patogen, który w przypadku ludzi z obniżoną odpornością immunologiczną (podczas chemioterapii lub długotrwałej terapii antybiotykowej) wywołuje choroby nazywane kandydozami. Najczęściej stosowanymi lekami w infekcjach *C. albicans* są leki z grupy azoli (np. flukonazol – FLC) i polienów (np. amfoterycyna B – AMB) [1]. Mechanizm działania leków azolowych opiera się na inhibicji enzymu biorącego bezpośredni udział w biosyntezie ergosterolu (14 α -demetylazy lanosterolu – produktu genu *ERG11*), z kolei polieny wiążąc się do ergosterolu zaburzają jego prawidłowe położenie w błonie komórkowej.

Celem niniejszych badań było określenie wpływu delecji i nadekspresji genu *ERG11* na parametry błony komórkowej i kompozycję ściany komórkowej *C. albicans*. Oba mutanty *C. albicans* wykazują oporność na FLC i AMB, co dowodzi różnej strategii nabywania oporności na leki przez ten patogen. Nasze badania dowiodły, iż nadekspresja genu *ERG11* przekłada się na podwyższoną syntezę ergosterolu, przez co obserwuje się zwiększenie sztywności błony komórkowej nawet w przypadku komórek będących w fazie zamierania. Z kolei dodatek FLC lub AMB oraz obniżenie poziomu ergosterolu skutkuje wzrostem płynności błony badanych szczepów *C. albicans*. Podobny efekt obserwowano dla komórek mutantu *C. albicans* wykazującego brak ergosterolu w błonie komórkowej.

Analiza składu ściany komórkowej wykazała znaczący stopień odmaskowania chityny i β -glukanu na powierzchni komórek *C. albicans* z nadekspresją genu *ERG11*. W przypadku szczepu *C. albicans* z delecją tego genu ekspozycja chityny i β -glukanu zachodzi w jeszcze większym stopniu. Wymienione komponenty ściany komórkowej określone są jako wzorce molekularne związane z patogenami (PAMPs), które są rozpoznawane przez receptory rozpoznające wzorce (PRRs) obecne na powierzchni komórek gospodarza [2]. Biorąc pod uwagę fakt, iż ściana komórkowa *C. albicans* jako pierwsza kontaktuje się z powierzchnią komórek ludzkich, takie zmiany w jej kompozycji mogą znacząco wpływać na odpowiedź immunologiczną komórek gospodarza względem tego patogenu [3].

1. Bhattacharya S., Sae-Tia S., Fries B.C., 2020. Candidiasis and Mechanisms of Antifungal Resistance. *Antibiotics*; 9(6); 312.
2. Pappas P. G., Lionakis M. S., Arendrup M. C., Ostrosky-Zeichner L., Kullberg B. J., 2018. Invasive candidiasis. *Nature*; 4 (18026)
3. Cottier F., Sherrington S., Cockerill S., del Olmo Toledo V., Kissane S., Tournu H., Orsini L., Palmer G., Pérez J. C., Hall R., 2019. Remasking of *Candida albicans* β -Glucan in Response to Environmental pH Is Regulated by Quorum Sensing. *MBio*, 10 (5) e02347-19

Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki (NCN), numer grantu: 2016/23/B/NZ1/01928

The influence of ergosterol on plasma membrane parameters and cell wall composition of *Candida albicans*

Daria Derkacz¹, Przemysław Bernat², Anna Krasowska¹

¹ Department of Biotransformation, Faculty of Biotechnology, University of Wrocław

² Department of Industrial Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź

daria.derkacz@uwr.edu.pl

Key words: *Candida albicans*, ergosterol, plasma membrane, cell wall

Candida albicans (C.P. Robin) Berkhout is an opportunistic pathogen which in case of immunocompromised individuals (during chemotherapy or prolonged antibiotic therapy) causes diseases named candidiasis. The most often used drugs in *C. albicans* infection treatment are azole (e.g. fluconazole – FLC) and polyenes (e. g. amphotericin B – AMB) drugs [1]. Azoles inhibit ergosterol biosynthesis pathway (lanosterol 14 α -demethylase – product of *ERG11* gene), polyenes bind to ergosterol and disrupt its proper localisation in the plasma membrane.

The aim of the present study was to determine the influence of deletion and overexpression of *ERG11* gene on *C. albicans* plasma membrane parameters and cell wall composition. Both *C. albicans* mutants demonstrate the resistance towards FLC and AMB, which proves a different resistance strategy of this pathogen to these drugs. Our investigations have proven that overexpression of *ERG11* gene corresponds to an increased ergosterol production, hence the plasma membrane increases its stiffness which is also observed in senescent cells. On the other hand, the addition of FLC or AMB and decrease the level of ergosterol resulting in the increase of the plasma membrane fluidity of investigated strains of *C. albicans*. We observed a similar result for a mutant without ergosterol.

Analysis of cell wall of *C. albicans* mutant overexpressing *ERG11* revealed a significant exposure of chitin and β -glucan. In case of *C. albicans* mutant with the *ERG11* deletion, unmasking of chitin and β -glucan takes place to an even greater extent. Investigated cell wall components are described as a pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) which are recognized by pattern recognition receptors (PRRs) on the surface of host cells [2]. Considering that *C. albicans* cell wall is first to interfere with the surface of human cells, such alteration can influence the host immune response to this pathogen [3].

1. Bhattacharya S., Sae-Tia S., Fries B.C., 2020. Candidiasis and Mechanisms of Antifungal Resistance. *Antibiotics*; 9(6); 312.
2. Pappas P. G., Lionakis M. S., Arendrup M. C., Ostrosky-Zeichner L., Kullberg B. J., 2018. Invasive candidiasis. *Nature*; 4 (18026)
3. Cottier F., Sherrington S., Cockerill S., del Olmo Toledo V., Kissane S., Tournu H., Orsini L., Palmer G., Pérez J. C., Hall R., 2019. Remasking of *Candida albicans* β -Glucan in Response to Environmental pH Is Regulated by Quorum Sensing. *MBio*,10 (5) e02347-19

This work was supported by National Science Centre (NCN), grant number: 2016/23/B/NZ1/01928



POLSKIE TOWARZYSTWO
MYKOLOGICZNE



Grzyby w biotechnologii i przemyśle

Wpływ lakazy *Cerrena unicolor* na stężenie polifenoli w winie czerwonym

Sylwia Stefanek, Grzegorz Janusz

Katedra Biochemii i Biotechnologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

snatoniewska@gmail.com

Słowa kluczowe: lakaza, *Cerrena unicolor*, wino, przemysł spożywczy

Gmatkówka szarawa (*Cerrena unicolor*) należąca do grzybów podstawkowych, zaliczana jest do grzybów białej zgnilizny drewna. Gatunek ten wytwarza duże ilości zewnątrzkomórkowej lakazy, która ma potencjalne zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu [1,2]. Jednakże do tej pory te badania pomijały aplikacyjność tego enzymu do celów poprawy jakości i trwałości produktów spożywczych [1]. W ten nurt wpisują się przedstawione analizy mające na celu poprawę trwałości wina [3]. Główną intencją tych badań była ocena stopnia usuwania związków polifenolowych z wina czerwonego z wykorzystaniem lakazy otrzymanej z *C. unicolor*, co potencjalnie może wpływać na większą stabilność wina podczas przechowywania w dłuższej perspektywie czasowej. Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, że stopień usuwania tych związków z wina wyraźnie jest skorelowany z wzrastającymi stężeniami użytej oksydazy grzybowej. Uzyskane ponadto wyniki wskazują, że lakaza znacznie obniża stężenie substancji fenolowych już na samym początku reakcji. Jednakże w dłuższej inkubacji (do czterech tygodni) w takim modyfikowanym enzymatycznie winie odnotowano odpowiednio mniejszy spadek stężenia tych związków niż w próbce kontrolnej.

1. Osma J. F., Toca-Herrera J. L., Rodríguez-Couto S. (2010) Uses of Laccases in Food Industry. Enzyme research
2. Minussi R. C., Pastore G. M., Durán N. (2002) Potential applications of laccase in the food industry. Trends in Food Science & Technology 13, 205-216.
3. Minussi R. C., Rossi M., Bologna L., Rotilio D., Pastore G. M., Durán N. (2007) Phenols removal in musts: Strategy for wine stabilization of laccase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 45, 102-107.

Effect of *Cerrena unicolor* laccase on the concentration of polyphenols in red wine

Sylwia Stefanek, Grzegorz Janusz

Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, Maria Curie-Skłodowska University

snatoniewska@gmail.com

Key words: laccase, *Cerrena unicolor*, wine, food industrial

Greylog beetle (*Cerrena unicolor*), belonging to the basidiomycetes, is classified as a white wood rot fungus. This species produces large amounts of extracellular laccase which has potential use in many industries [1,2]. However, so far these studies have overlooked the applicability of this enzyme for the purposes of improving the quality and shelf life of food products [1]. The presented analyzes aimed for improving the durability of wine [3]. The main intention of these studies was to assess the degree of polyphenolic compounds removal from red wine with the use of *C. unicolor* laccase, which could potentially result in greater wine stability during long-term storage. The obtained results clearly indicate that the degree of removal of these compounds from wine is correlated with the increasing concentrations of the fungal oxidase used. Moreover, the obtained results show that laccase significantly lowers the concentration of phenolic substances at the very beginning of the reaction. However, in a longer incubation (up to four weeks), such enzyme-modified wine showed a correspondingly smaller decrease in the concentration of these compounds than in the control sample.

1. Osma J. F., Toca-Herrera J. L., Rodríguez-Couto S. (2010) Uses of Laccases in Food Industry. Enzyme research
2. Minussi R. C., Pastore G. M., Durán N. (2002) Potential applications of laccase in the food industry. Trends in Food Science & Technology 13, 205-216.
3. Minussi R. C., Rossi M., Bologna L., Rotilio D., Pastore G. M., Durán N. (2007) Phenols removal in musts: Strategy for wine stabilization of laccase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 45, 102-107.

Wpływ barwników azowych i metali ciężkich na profil fosfolipidowy błony komórkowej *Nectriella pironii* IM 6443

Aleksandra Góralczyk-Bińkowska, Anna Jasińska, Przemysław Bernat, Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

aleksandra.goralczyk@biol.uni.lodz.pl

Słowa kluczowe: grzyby strzępkowe, dekoloryzacja, metale ciężkie

Barwniki azowe stanowią ponad 70% wszystkich barwników wytwarzanych i wykorzystywanych na świecie. Wynika to z ich trwałości, intensywności kolorów, a także wszechstronnych możliwości stosowania. Z uwagi na ich powszechne wykorzystanie oraz nieskuteczność procesów oczyszczania, barwniki wraz z innymi zanieczyszczeniami przedostają się do ścieków (2-20% rocznej produkcji barwników). Zanieczyszczeniami, które spływają do ścieków przemysłowych razem z barwnikami są na ogół metale ciężkie, stosowane jako katalizatory przy produkcji substancji barwiących, co stanowi poważne zagrożenie dla środowiska [1,2].

Celem badań była ocena zdolności eliminacji barwników z hodowli mikroskopowego grzyba strzępkowego *Nectriella pironii* IM 6443 oraz analiza zmian profilu fosfolipidowego badanego szczepu. Hodowle *N. pironii* prowadzono przez 120 godzin w płynnym podłożu Sabouraud z dodatkiem barwników Acid Orange 7 i Reactive Red 120 (50 mg/l) oraz związków metali ciężkich (Cr(VI) 0,1 mM; Cd(II) 0,75 mM; Zn(II) 1,75 mM). Procent dekoloryzacji wyznaczano na podstawie pomiaru absorbancji barwników (AO 7 $\lambda=467$ nm; RR 120 $\lambda=516$ nm). W celu określenia wpływu barwników i jonów metali na błony biologiczne komórek grzyba przeprowadzono ekstrakcję fosfolipidów, które następnie poddano analizie z wykorzystaniem technik chromatograficznych (LC-MS/MS) [3].

Przeprowadzone badania wykazały, że już po 72 godzinach hodowli grzyba strzępkowego *N. pironii* uzyskano dekoloryzację wynoszącą 74% i 86% odpowiednio dla barwników AO 7 i RR 120. Dodatek metali ciężkich jedynie w pierwszych dobach prowadzenia hodowli zmniejszał eliminację barwników. Ponadto w hodowlach prowadzonych z dodatkiem barwników azowych i związków metali ciężkich po 24 godzinach inkubacji zaobserwowano zwiększenie płynności błony, co może umożliwiać przedostawanie się barwników i jonów metali do wnętrza komórek grzyba.

Podsumowując, badany szczep grzyba strzępkowego *N. pironii* IM 6443 może być wykorzystywany do eliminacji barwników ze ścieków przemysłowych.

1. Benkhaya S., Mrabet S., Harfi, A.E. 2020. Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. *Heliyon*, 6 (1), e03271.
2. Zaharia C., Suteu D. 2012. Textile Organic Dyes – Characteristics, Polluting Effects and Separation/Elimination Procedures from Industrial Effluents – A Critical Overview [w:] *Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention - Environmental and Analytical Update*, Puzyn T. (red.) InTech Europe, Rijeka, 55-86.
3. Bernat P., Gajewska E., Szewczyk R., Słaba M., Długoński J. 2014. Tributyltin (TBT) induces oxidative stress and modifies lipid profile in the filamentous fungus *Cunninghamella elegans*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21 (6), 4228–4235

Projekt finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki w Krakowie przyznanych na podstawie umowy nr UMO 2017/27/N/NZ9/02160.

Influence of azo dyes and heavy metals on phospholipids profile of *Nectriella pironii* IM 6443 cell membrane

Aleksandra Góralczyk-Bińkowska, Anna Jasińska, Przemysław Bernat, Jerzy Długoński

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

aleksandra.goralczyk@biol.uni.lodz.pl

Key words: filamentous fungi, decolorization, heavy metals

Azo dyes account for over 70% of all dyes produced and used worldwide because of their stability, color intensity, and versatile application possibilities. Due to their widespread use and ineffectiveness of treatment processes, dyes are lost during the dyeing processes and discharged together with other pollutants as aqueous effluents (2-20% of dyes produced annually). Apart from colorants, the wastewaters from textile industries contain heavy metals used as catalysts in colorants production, which poses a threat to the environment [1,2].

The aim of this study was to determine the ability to eliminate dyes from the microscopic filamentous fungus *Nectriella pironii* IM 6443 culture and analyze changes in phospholipid profile of the tested strain. *N. pironii* cultures were incubated during 120 hours in liquid Sabouraud medium with addition of dyes: Acid Orange 7 or Reactive Red 120 (50 mg/l) and heavy metal compounds (Cr(VI) 0.1 mM; Cd(II) 0.75 mM; Zn(II) 1.75 mM). Percentage decolorization was calculated based on measuring the decrease in absorbance (AO 7 λ =467 nm; RR 120 λ =516 nm). To evaluate the effect of dyes and metals ions on the fungal membranes, phospholipids were extracted and then analyzed using chromatographic techniques (LC-MS/MS) [3].

It was shown that after just 72 hours of *N. pironii* culture, the decolorization was 74% and 86%, for dyes AO 7 and RR 120, respectively. The addition of heavy metals only on the first day of incubation caused the decrease in dyes elimination. Furthermore, in cultures containing azo dyes and heavy metal ions, after 24 hours of incubation the increase in membrane fluidity was observed, possibly leading them to enter into the fungal cells.

In conclusion, microscopic filamentous fungus *N. pironii* IM 6443 might be used for dyes elimination from industrial wastewater.

1. Benkhaya S., Mrabet S., Harfi, A.E. 2020. Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. *Heliyon*, 6 (1), e03271.
2. Zaharia C., Suteu D. 2012. Textile Organic Dyes – Characteristics, Polluting Effects and Separation/Elimination Procedures from Industrial Effluents – A Critical Overview [in:] *Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention - Environmental and Analytical Update*, Puzyn T. (Ed.) InTech Europe, Rijeka, 55-86.
3. Bernat P., Gajewska E., Szewczyk R., Słaba M., Długoński J. 2014. Tributyltin (TBT) induces oxidative stress and modifies lipid profile in the filamentous fungus *Cunninghamella elegans*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21 (6), 4228–4235

This study was supported by the National Science Centre of Poland, project no. UMO 2017/27/N/NZ9/02160.

Wpływ dodatku soli cynku do podłoża hodowlanego na przyrosty biomasy i akumulację cynku w kulturach mycelialnych *Ganoderma* spp.

Monika Balik¹, Katarzyna Sułkowska-Ziaja², Agata Krakowska³, Bożena Muszyńska²

¹ Studenckie Koło Naukowe Biotechnologii Roślin i Grzybów Leczniczych,
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

² Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

³ Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

monikabalik1311@gmail.com

Słowa kluczowe: *Ganoderma* spp., kultury mycelialne, sole cynku

Rodzaj *Ganoderma* ze względu na zawartość licznych bioaktywnych związków od lat stanowi uznany surowiec leczniczy, szczególnie w tradycyjnej medycynie chińskiej. Jego potencjał leczniczy jest doceniany również w innych rejonach świata, o czym świadczy np. monografia *Ganoderma lucidum* w Farmakopei Europejskiej X [1]. Alternatywę w pozyskiwaniu cennego materiału do badań wobec zbioru owocników ze stanu naturalnego stanowią kultury mycelialne. Ważnym kierunkiem badawczym w biotechnologii grzybów wyższych są procesy polegające na modyfikowaniu szlaków metabolicznych prowadzące do zwiększenia przyrostów biomasy oraz podwyższenia stopnia akumulacji substancji produkowanych przez kultury mycelialne.

Jednym z potencjalnych czynników wpływających na zawartość składników biomasy jest cynk – pierwiastek pełniący ważną rolę w regulowaniu procesów fizjologicznych zachodzących w organizmie człowieka. Wykazuje on korzystny wpływ m.in. na układ immunologiczny, nerwowy, krwionośny, kostny. Udowodniono również jego działanie przeciwwirusowe.

Celem pracy była ocena wpływu organicznych i nieorganicznych soli cynku na jego akumulację oraz przyrosty biomasy w kulturach mycelialnych sześciu wybranych gatunków z rodzaju *Ganoderma*.

Obiekt przeprowadzonych badań stanowiły kultury mycelialne: *G. adspersum*, *G. applanatum*, *G. carnosum*, *G. lucidum*, *G. pfeifferi* i *G. resinaceum*. Hodowle prowadzono w specjalnie skonstruowanych bioreaktorach [2] na płynnych podłożach wzbogaconych odpowiednio w 0,09 g/L podłoża siarczanu cynku oraz 0,1 g/L wodorooasparaginy cynku [3]. Do oznaczeń zawartości cynku zastosowano metodę ASA (Atomowa Spektrometria Absorpcyjna) pozwalającą na oznaczanie pierwiastków chemicznych w ekstraktach z otrzymanej biomasy. Przyrosty biomasy oszacowano na podstawie pomiarów otrzymanych w 3 seriach hodowlanych dla każdego wariantu podłoża.

Wykazano, że wzbogacanie kultur mycelialnych badanych gatunków solami cynku powoduje efektywniejszy przyrost biomasy w porównaniu z próbą kontrolną. W przypadku suplementacji siarczanem cynku największy przyrost biomasy odnotowano w przypadku *G. lucidum*, z kolei najmniejszy dla *G. carnosum*. Analiza statystyczna akumulacji cynku wykazała tendencję do zwiększonej akumulacji jonów cynku przez biomasę w przypadku suplementacji siarczanem cynku. Najwyższą zawartość jonów cynku oznaczono w przypadku *G. lucidum* i *G. adspersum* na podobnym poziomie, odpowiednio 194,15 i 194,19 mg/100 g s.m. Dla porównania w próbach kontrolnych zawartość ta wynosiła odpowiednio 8,92 i 7,30 mg/100 g s.m.

Zastosowana metoda suplementacji podłoża hodowlanego solami cynku potwierdziła możliwość otrzymania mycelium o potencjalnym znaczeniu jako składnika preparatów w profilaktyce chorób cywilizacyjnych.

1. Suplement 10.3 do Farmakopei Europejskiej wydanie X, 2020
2. Fijałkowska A., Muszyńska B., Sułkowska-Ziaja K., Kała K., Pawlik A., Stefaniuk D., Matuszewska A., Piska K., Pękala E., Kaczmarczyk P., Piętko J., Jaszek M. Medicinal potential of mycelium and fruiting bodies of an arboreal mushroom *Fomitopsis officinalis* in therapy of lifestyle diseases. Scientific Reports, 2020 : 10, 20081.
3. Włodarczyk A., Krakowska A., Sułkowska-Ziaja K., Suchanek M., Zięba P., Opoka W., Muszyńska B. *Pleurotus* spp. Mycelia Enriched in Magnesium and Zinc Salts as a Potential Functional Food. Molecules 2021; 26(1):162.

The effect of zinc salts addition to culture medium on the growth of biomass and the accumulation of zinc in mycelial cultures of *Ganoderma* spp.

Monika Balik¹, Katarzyna Sułkowska-Ziaja², Agata Krakowska³, Bożena Muszyńska²

¹*SSG of Medicinal Plant and Mushroom Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University Medical College*

²*Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University Medical College*

³*Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University Medical College*

monikabalik1311@gmail.com

Key words: *Ganoderma* spp., mycelial cultures, zinc salts

Genus *Ganoderma*, due to the content of numerous bioactive compounds, has been found as the medicinal raw materials for many years, especially in traditional Chinese medicine. Its healing potential is also appreciated in other regions of the world, for example, by the monograph of *Ganoderma lucidum* in the European Pharmacopoeia [1]. An alternative in obtaining material for research instead of fruiting bodies collection from natural state are mycelial cultures. Important research direction in the biotechnology of higher fungi are processes which modify metabolic pathways in order to increase biomass growth and amount of accumulated substances produced by mycelial cultures. Zinc is one of the potential factors influencing the content of biomass components. This microelement plays an important role in regulating homeostasis in the human body. It has beneficial effect on the immune, nervous, circulatory and skeletal systems. Its antiviral activity also was proven.

The study aimed to evaluate the influence of zinc salts on its accumulation and biomass growth in mycelial cultures of 6 *Ganoderma* species.

The objects of the research were mycelial cultures of: *G. adspersum*, *G. applanatum*, *G. carnosum*, *G. lucidum*, *G. pfeifferi* and *G. resinaceum*. Cultures were maintained in specially constructed bioreactors [2] on liquid medium with addition: 0.09 g/L of zinc sulphate and 0.1 g/L of zinc hydroaspartate [3]. To determine the zinc content in extracts from obtained biomass the ASA method was used. The growths of biomass were estimated on the basis of measurements made in 3 breeding series for each culture medium variant.

Enrichment of mycelial cultures with zinc salts results in a more effective biomass growth compared to the control sample. In case of zinc sulphate supplementation, the highest biomass growth was noticed for *G. lucidum*, while the lowest for *G. carnosum*. Statistical analysis of zinc accumulation showed tendency for increased accumulation of zinc ions by biomass in the case of supplementation with zinc sulphate. The highest content of zinc ions was determined for mycelium of *G. lucidum* and *G. adspersum*: 194.15 and 194.19 mg/100 g dry mass. In control samples it was: 8.92 and 7.30 mg /100 g d.m., respectively.

The method of supplementing the culture medium with zinc salts confirmed the possibility of obtaining mycelium as a potential ingredient of preparations in the prevention of civilization diseases.

1. The European Pharmacopoeia Supplement 10.3, 2020
2. Fijałkowska A., Muszyńska B., Sułkowska-Ziaja K., Kała K., Pawlik A., Stefaniuk D., Matuszewska A., Piska K., Pękala E., Kaczmarczyk P., Piętka J., Jaszek M. Medicinal potential of mycelium and fruiting bodies of an arboreal mushroom *Fomitopsis officinalis* in therapy of lifestyle diseases. Scientific Reports, 2020 : 10, 20081.
3. Włodarczyk A., Krakowska A., Sułkowska-Ziaja K., Suchanek M., Zięba P., Opoka W., Muszyńska B. *Pleurotus* spp. Mycelia Enriched in Magnesium and Zinc Salts as a Potential Functional Food. Molecules 2021: 26(1):162.

Wpływ skojarzonego działania acetamiprydu i zarodników grzyba *Metarhizium brunneum* na larwy owada *Tenebrio molitor*

Monika Nowak, Sylwia Różalska

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

monika.nowak@biol.uni.lodz.pl

Słowa kluczowe: acetamipryd, *Metarhizium*, patogenezę owadów, bioakumulacja

Acetamipryd jest szeroko stosowanym na całym świecie środkiem ochrony roślin przed szkodnikami, zaliczanym do grupy neonikotynoidów, tj. insektycydów neuroaktywnych [1]. Ze względu na swoje skuteczne działanie wobec insektów i relatywnie niski poziom zagrożenia wobec innych organizmów żywych, zyskał dużą popularność wśród rolników. Każdego roku coraz więcej tego związku zostaje wprowadzone do środowiska naturalnego, gdzie zalega w glebie oraz akumuluje się w roślinach. Alternatywą do stosowania chemicznych środków ochrony roślin są biopestycydy. Grzyby entomopatogenne wykazują wysoką skuteczność bójącą wobec insektów, jednak w porównaniu do pestycydów chemicznych proces ten jest wydłużony i trwa nawet do 14 dni [2].

Celem przeprowadzonych badań było sprawdzenie, czy acetamipryd akumuluje się w zarodnikach grzyba *Metarhizium brunneum* ARSEF2107 oraz jaki efekt bójący wobec larw *Tenebrio molitor* ma skojarzone działanie zarodników tego grzyba ze zakumulowanym acetamiprydem.

W wyniku przeprowadzonych badań dowiedziono, że acetamipryd zakumulował się w zarodnikach grzyba *M. brunneum* w ilości około 0,280 µg na 10⁶ zarodników. Analiza ilościowa insektycydu została przeprowadzona przy zastosowaniu techniki chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS/MS). Działanie bójące wobec larw *T. molitor* zostało sprawdzone w pięciu wariantach, tj. przy zastosowaniu acetamiprydu w stężeniach 5, 25 i 50 mg/L, zarodników grzyba *M. brunneum* oraz zarodników grzyba *M. brunneum* ze zakumulowanym acetamiprydem. Dowiedziono, że zastosowanie acetamiprydu w stężeniu 50 mg/L wywołało podobne działanie bójące wobec larw *T. molitor*, jak wariant z zastosowaniem zarodników grzyba *M. brunneum* ze zakumulowanym acetamiprydem. Parametr LT₅₀ dla acetamiprydu w dawce 50 mg/L określono na piąty dzień eksperymentu, natomiast dla zarodników ze zakumulowanym acetamiprydem był to szósty dzień. Dodatkowo w 14 dniu eksperymentu, śmiertelność *T. molitor* dla najwyższego stężenia acetamiprydu była na poziomie 70%, natomiast dla zarodników ze zakumulowanym insektycydem na poziomie 80% [3].

Zastosowanie skojarzonego działania insektycydu chemicznego z bioinsektycydem wykazuje potencjał w walce z szkodnikami roślin. Dzięki takiemu podejściu można ograniczyć wprowadzanie acetamiprydu do środowiska, ponieważ ilość acetamiprydu zakumulowanego w zarodnikach grzyba *M. brunneum* była około 200 razy niższa od najwyższej zastosowanej dawki samego insektycydu chemicznego, a skuteczność wobec larw *T. molitor* kształtowała się na tym samym poziomie.

1. Han, W.; Tian, Y.; Shen, X. Human exposure to neonicotinoid insecticides and the evaluation of their potential toxicity: An overview. *Chemosphere* 2018, 192, 59–65.
2. EFSA (European Food Safety Authority). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance acetamiprid. *EFSA J.* 2016, 14, 26.
3. M. Nowak, P. Bernat, J. Mrozińska, S. Różalska. Acetamiprid Affects Destruxins Production but Its Accumulation in *Metarhizium* sp. Spores Increases Infection Ability of Fungi, *Toxins* (Basel). 12 (2020) 587.

Praca była finansowana z grantu z Narodowego Centrum Nauki w Krakowie (Polska), nr umowy UMO-2016/23/B/NZ9/00840.

Effect of the combined action of *Metarhizium brunneum* spores with the accumulated acetamiprid on *Tenebrio molitor*

Monika Nowak, Sylwia Różalska

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

monika.nowak@biol.uni.lodz.pl

Key words: acetamiprid, *Metarhizium*, insect pathogenesis, bioaccumulation

Acetamiprid is a plant protection product widely used worldwide. It belongs to the group of neonicotinoids, i.e. neuroactive insecticides [1]. Due to its high effectiveness against insects and a less harmfulness to other living organisms, the acetamiprid has gained great popularity among farmers. Every year large amounts of this compound are introduced into the natural environment. Acetamiprid penetrates the soil and accumulates in plants. Biopesticides are an alternative to the use of chemical plant protection products. Entomopathogenic fungi show high insecticidal effectiveness, however, compared to chemical pesticides, the infection process is extended and lasts up to 14 days [2].

The aim of our research was to check whether acetamiprid accumulates in the spores of *Metarhizium brunneum* ARSEF2107 fungus and to determine the killing properties of spores with accumulated acetamiprid on *Tenebrio molitor* larvae.

It was proved that acetamiprid accumulated in the spores of *M. brunneum* in the amount of about 0.280 µg per 10⁶ of spores. The quantitative analysis of the insecticide was performed using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The killing properties against *T. molitor* larvae were tested in five variants, i.e. with the acetamiprid at the concentrations of 5, 25 and 50 mg/L, the spores of *M. brunneum* and the spores of *M. brunneum* with the accumulated acetamiprid. It was proved that the use of the acetamiprid at the concentration of 50 mg/L caused a similar killing effect on *T. molitor* as the use of the spores of *M. brunneum* with the accumulated acetamiprid. The LT₅₀ for the highest dose of acetamiprid was determined on the fifth day of the experiment, while for the spores with accumulated acetamiprid it was day six. Additionally, on the 14th day of the experiment, the mortality of *T. molitor* for the highest concentration of the acetamiprid was at the level of 70%, and for the spores with the accumulated insecticide at the level of 80% [3].

The use of a combined action of the chemical insecticide with the bioinsecticide has the potential to combat plant pests. Due to this approach, the release of acetamiprid into the environment can be limited, because the amount of acetamiprid accumulated in the spores of the *M. brunneum* was about 200 times lower than the highest dose of the chemical insecticide used alone, and the efficacy against *T. molitor* larvae was at the same level.

1. Han, W.; Tian, Y.; Shen, X. Human exposure to neonicotinoid insecticides and the evaluation of their potential toxicity: An overview. *Chemosphere* 2018, 192, 59–65.
2. EFSA (European Food Safety Authority). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance acetamiprid. *EFSA J.* 2016, 14, 26.
3. M. Nowak, P. Bernat, J. Mrozińska, S. Różalska. Acetamiprid Affects Destruxins Production but Its Accumulation in *Metarhizium* sp. Spores Increases Infection Ability of Fungi, *Toxins* (Basel). 12 (2020) 587.

This work was supported by Polish National Science Centre, grant no. UMO-2016/23/B/NZ9/00840

Wpływ światła na biosyntezę bikaweryny przez izolaty *Fusarium temperatum*

Aleksandra Lewandowska¹, Emilia Jabłońska¹, Marcin Wit¹, Piotr Ochodźki², Wojciech Wakuliński¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

²Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Państwowy Instytut Badawczy

aleksandra.lewandowska224@wp.pl

Słowa kluczowe: *Fusarium temperatum*, bikaweryna, naturalne barwniki

Bikaweryna (C₂₀H₁₄O₈) to pochodna xantonu, oryginalnie opisana jako metabolit *Fusarium lycopersici*. Związek ten jest znany pod licznymi synonimami m.in. lycopersin, passiflorin oraz mycogonin. Jest to metabolit biosyntetyzowany przez różne gatunki grzybów, głównie z rodzaju *Fusarium* oraz sporadycznie przez przedstawicieli innych rodzajów w tym *Mycogone* oraz *Verticillium*. Bikaweryna wykazuje właściwości oligodynamiczne w stosunku do bakterii [1], grzybów [2], chromista [3] oraz niektórych pierwotniaków [4], stwierdzono także właściwości cytotoksyczne tego związku w stosunku do komórek nowotworowych [5]. Biosynteza bikaweryny warunkowana jest klastrem genów *bik* ekspresja których uzależniona jest od szeregu czynników środowiska w tym podaży N, C, stężenia [H⁺] [6].

Celem podjętych badań była analiza zmienności biosyntezy bikaweryny przez izolaty *Fusarium temperatum* przy różnych warunkach ekspozycji kultur grzyba na światło. Materiał badawczy stanowiła populacja jednozarodnikowych izolatów *F. temperatum* uzyskana w wyniku przekrzyżowania izolatów rodzicielskich o dopełniających typach kojarzeniowych. Biosyntezę bikaweryny prowadzono na podłożu PDA w szalkach Petriego przy 4 różnych warunkach ekspozycji kultur na światło (białe, czerwone, niebieskie i bez światła). Analizę ilościową i jakościową bikaweryny przeprowadzano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) przy zastosowaniu detektora diodowego i kolumny C18 (150 x 4,6 mm i ziarnie 4 µm). Rozdział prowadzono w gradiencie acetonitrylu (od 40 do 80%) i 1% kwas mrówkowy. Chromatogramy rejestrowano przy długości fali 518 nm.

Występowanie bikaweryny stwierdzono w przypadku wszystkich analizowanych próbek izolatów *F. temperatum*, które były inkubowane w różnych warunkach świetlnych. Średnia zawartość bikaweryny biosyntetyzowanej przez badane izolaty wynosiła 1,92 µg/ml, a zakres zmienności cechy wahał się od 0,208 do 8,146 µg/ml. Istotny wpływ na poziom bikaweryny miał genotyp badanego gatunku, stwierdzono również tendencję wyższej biosyntezy bikaweryny w warunkach światła czerwonego, średnio 2,25 µg/ml.

1. Sondergaard, T. E., Fredborg, M., Oppenhagen Christensen, A. M., Damsgaard, S. K., Kramer, N. F., Giese, H., & Sørensen, J. L. 2016. Fast Screening of Antibacterial Compounds from Fusaria. *Toxins*, 8, 355.
2. Betina V., Janstová D. and Spisiaková J. 1975. Effects of antibiotics on the life cycle of *Neurospora crassa*. *Folia Microbiol.* 20, 340–345.
3. Son, S & Kim, H & Choi, G & Lim, H & Jang, K & Lee, S.O. & Sung, N & Kim, J.C. 2008. Bikaverin and fusaric acid from *Fusarium oxysporum* show antioomycete activity against *Phytophthora infestans*. *Journal of applied microbiology*. 104. 692-8.
4. Balan, J., Fuska, J., Kuhr, I. et al. Bikaverin, an antibiotic from *Gibberella fujikuroi*, effective against *Leishmania brasiliensis*. 1970. *Folia Microbiol* 15, 479–484.
5. Hinojosa-Ventura G. 2019. Cytotoxic and Antitumoral Effects of Bikaverin Isolated from *Gibberella fujikuroi* on L5178Y Lymphoma Murine Model. *J. Mex. Chem. Soc.* 63.115-122.
6. Limón M.C., Rodríguez-Ortiz R., Avalos J., 2010. Bikaverin production and applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 87: 22-27.

Badania częściowo wykonane w ramach działania naukowego 2019/03/X/NZ9/01640 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

Effect of light on bikaverin biosynthesis by *Fusarium temperatum* isolates

Aleksandra Lewandowska¹, Emilia Jabłońska¹, Marcin Wit¹, Piotr Ochodźki², Wojciech Wakuliński¹

¹Warsaw University of Life Sciences

²Plant Breeding and Acclimatization Institute - National Research Institute

aleksandra.lewandowska224@wp.pl

Keywords: *Fusarium temperatum*, bikaverin, natural dyes

Bikaverin (C₂₀H₁₄O₈) is a xanthone derivative originally described as a metabolite of *Fusarium lycopersici*. The compound is known by numerous synonyms including lycopersin, passiflorin and mycogonin. It is a metabolite biosynthesised by various fungi species, predominantly of the genus *Fusarium* and occasionally by representatives of other genera including *Mycogone* and *Verticillium*. Bikaverin exhibits oligodynamic properties against bacteria [1], fungi [2], chromista [3], and some protozoa [4]; cytotoxic properties of this compound against cancer cells have also been reported [5]. The biosynthesis of bikaverin is determined by a cluster of *bik* genes, the expression of which depends on a number of environmental factors including N supply, C supply, [H⁺] concentration [6].

This work aimed to analyse the variability of bikaverin biosynthesis by *Fusarium temperatum* isolates at different conditions of light exposure of fungal cultures. The research material was a population of monospore *F.temperatum* isolates obtained as a result of crosses between parental isolates of complementary mating types. Biosynthesis of bikaverin was carried out on PDA medium in Petri dishes at 4 different conditions of exposure of cultures to light (white, red, blue and no light). Quantitative and qualitative analysis of bikaverin was performed by high-performance liquid chromatography (HPLC) using a diode array detector and a C18 column (150x4.6 mm and 4 µm grain). The separation was carried out in a gradient of acetonitrile (40 to 80%) and 1% formic acid. Chromatograms were recorded at 518 nm.

The occurrence of bikaverin was found for all analysed samples of *F.temperatum* isolates, which were incubated under different light conditions. The mean bikaverin content biosynthesised by the population of isolates studied was 1.92 µg/ml, and the range of variation of the trait varied from 0.208 to 8.146 µg/ml. The level of bikaverin was significantly influenced by the genotype of the studied species, and a tendency for higher bikaverin biosynthesis under red light conditions of 2.25 µg/ml on average was also found.

1. Sondergaard, T. E., Fredborg, M., Oppenhagen Christensen, A. M., Damsgaard, S. K., Kramer, N. F., Giese, H., & Sørensen, J. L. 2016. Fast Screening of Antibacterial Compounds from Fusaria. *Toxins*, 8, 355.
2. Betina V., Janstová D. and Spisiaková J. 1975. Effects of antibiotics on the life cycle of *Neurospora crassa*. *Folia Microbiol.* 20, 340–345.
3. Son, S & Kim, H & Choi, G & Lim, H & Jang, K & Lee, S.O. & Sung, N & Kim, J.C. 2008. Bikaverin and fusaric acid from *Fusarium oxysporum* show antioomycete activity against *Phytophthora infestans*. *Journal of applied microbiology*. 104. 692-8.
4. Balan, J., Fuska, J., Kuhr, I. et al. Bikaverin, an antibiotic from *Gibberella fujikuroi*, effective against *Leishmania brasiliensis*. 1970. *Folia Microbiol* 15, 479–484.
5. Hinojosa-Ventura G. 2019. Cytotoxic and Antitumoral Effects of Bikaverin Isolated from *Gibberella fujikuroi* on L5178Y Lymphoma Murine Model. *J. Mex. Chem. Soc.* 63.115-122.
6. Limón M.C., Rodríguez-Ortiz R., Avalos J., 2010. Bikaverin production and applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 87: 22-27.

Research partially carried under the scientific action 2019/03/X/NZ9/01640 funded by the National Science Centre.

Biodegradacja metyloizotiazolinonu przez *Phanerochaete chrysosporium*

Marta Nowak, Katarzyna Zawadzka, Aleksandra Tończyk, Katarzyna Lisowska

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

marta.nowak@biol.uni.lodz.pl

Słowa kluczowe: metyloizotiazolinon; środki ochrony indywidualnej; biodegradacja; detoksyfikacja; zanieczyszczenie środowiska

Rozwój cywilizacji i intensyfikacja działalności gospodarczej człowieka jest przyczyną wzrostu syntezy nowych organicznych związków chemicznych, które w znacznych ilościach przedostają się do środowiska naturalnego. Wśród szerokiej gamy produktów, określanych mianem „emerging contaminants”, znalazły się dodatki do produktów ochrony indywidualnej (ang. Personal Care Products, PCPs) oraz chemii gospodarczej. Aktywne składniki PCPs, takie jak środki biobójcze, zapachy, surfaktanty i filtry UV są powszechnie obecne w środowisku, ponieważ są do niego wprowadzane w sposób ciągły. Związki te są potencjalnie ekotoksyczne, przez co mogą negatywnie wpływać na zdrowie ludzi i zwierząt w perspektywie długotrwałego narażenia [1]. Jednym z przedstawicieli tej grupy związków jest metyloizotiazolinon (MIT), należący do izotiazolinonów, powszechnie stosowanych w przemyśle kosmetycznym i chemicznym jako środki konserwujące, hamujące wzrost glonów, bakterii i grzybów [2]. Podobnie jak większość związków z grupy PCPs, MIT przedostaje się do oczyszczalni ścieków w niezmienionej postaci. W związku z jego aktywnością przeciwdrobnoustrojową działa toksycznie wobec organizmów osadu czynnego, przez co zakłóca skuteczne działanie oczyszczalni ścieków [4].

Istnieje zatem konieczność prowadzenia badań dotyczących losów środowiskowych tych ksenobiotyków oraz poszukiwania drobnoustrojów zdolnych do efektywnej degradacji i detoksykacji tych niebezpiecznych zanieczyszczeń, co mogłyby stanowić tańszą alternatywę dla nisko wydajnych metod fizyko-chemicznych oczyszczania ścieków.

Celem niniejszej pracy była ocena zdolności szczepu *Phanerochaete chrysosporium* DSM 1556 do degradacji i detoksykacji metyloizotiazolinonu oraz analiza stężeń środowiskowych MIT w wybranych miejscach w Polsce.

Przeprowadzone badania wykazały, że szczep *P. chrysosporium* zdolny jest do wzrostu w obecności MIT, w stężeniu $50 \mu\text{g L}^{-1}$ i 30 mg L^{-1} . Ponadto badany grzyb, eliminuje całkowicie MIT z podłoża wzrostu już po 12 h inkubacji. Analiza jakościowa LC-MS/MS i GC-MS pozwoliła zidentyfikować trzy produkty jego degradacji: monohydroksylowany metyloizotiazolinon, dihydroksylowany metyloizotiazolinon i kwas N-metylomalonowy. Badanie toksyczności płynów pochodzących wykazało, że proces degradacji MIT, prowadzi do detoksykacji związku macierzystego poprzez powstanie mniej toksycznych produktów. Niniejsze badania umożliwiły także, po raz pierwszy, ocenić stężenia środowiskowe MIT w Polsce. Największe ilości badanego ksenobiotyku zidentyfikowano w próbach gleby, pobranych z okolic myjni samochodowych w Poddębicach i Tomaszowie Mazowieckim. Wysokie stężenia MIT były także obecne w próbach piasku z Łeby i Chłapowa [3].

1. Brausch, J.M., Rand, G.M., 2011. A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity. *Chemosphere* 82 (11), 1518e1532. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.018>.
2. Capkin, E., Ozcelep, T., Kayis, S., Altinok, I., 2017. Antimicrobial agents, triclosan, chloroxylenol, methylisothiazolinone and borax, used in cleaning had genotoxic and histopathologic effects on rainbow trout. *Chemosphere* 182, 720e729. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.093>.
3. Nowak, M., Zawadzka, K., Lisowska, K., 2020. Occurrence of methylisothiazolinone in water and soil samples in Poland and its biodegradation by *Phanerochaete chrysosporium*. *Chemosphere*, 126723. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126723
4. Wieck, S., Olsson, O., Kümmerer, K., 2016. Possible underestimations of risks for the environment due to unregulated emissions of biocides from households to wastewater. *Environ. Int.* 94, 695e705. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.07.007>.

Biodegradation of methylisothiazolinone by *Phanerochaete chrysosporium*

Marta Nowak, Katarzyna Zawadzka, Aleksandra Tończyk, Katarzyna Lisowska

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

marta.nowak@biol.uni.lodz.pl

Key words: methylisothiazolinone; personal care products; biodegradation; detoxification; environmental pollution

The development of civilization and the intensification of human economic activity is the reason for the increase in the synthesis of new organic chemical products, which in large quantities get into the natural environment. Among the wide range of products, referred to as "emerging contaminants", there are additives for Personal Care Products (PCPs) and household chemicals. Active ingredients of PCPs, such as biocides, fragrances, surfactants, and UV filters are currently a concern due to their ubiquity in the environment, pseudo-persistence, and potential ecotoxicity [1]. One of the primary representatives of this group of compounds is methylisothiazolinone (MIT, MI), which belongs to the isothiazolinone group, and is used in the cosmetic and chemical industry to limit the growth of fungi, bacteria, and algae [2]. MIT, like PCPs, is most often intended for external use, thus it gets directly to the sewage treatment plants, not subject to previous metabolic changes. Due to their antimicrobial properties, this compound negatively affects the active sludge organisms, thus disturbing the proper functioning of the sewage treatment plant. Therefore, it is necessary to understand the influence of this compound on the natural environment and search for microorganisms capable of its effective detoxification and elimination, which could be a cheaper alternative to low-efficiency physicochemical methods of wastewater treatment [4].

The aim of this study was to evaluate the ability of *Phanerochaete chrysosporium* DSM 1556 to degrade and detoxify methylisothiazolinone and estimated the environmental concentrations of MIT in Poland.

The conducted study indicated that the tested strain demonstrate tolerance to the presence of the xenobiotic at concentrations 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ and 30 mg L^{-1} . Moreover, LC-MS/MS and GC-MS analysis showed that *P. chrysosporium* removed 100% of MIT from the growth medium after 12 h of incubation with the formation of three metabolites: monohydroxylated methylisothiazolinone, dihydroxylated methylisothiazolinone and N-methylmalonic acid. The ecological toxicity of the tested biocide and its derivatives was also evaluated by using an acute toxicity test with *Daphnia magna*. An approximately 90% decrease in the toxicity of metabolites formed in the *P. chrysosporium* culture was noticed. In addition, the concentration of MIT in soil and water samples collected in Poland was assessed for the first time. Most of the xenobiotic was found in soil samples taken from the car washes in Poddębice and Tomaszów Mazowiecki. High levels of MIT were also observed near the Polish coast, and more specifically in sand samples from Łeba and Chłapowo [3].

1. Brausch, J.M., Rand, G.M., 2011. A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity. *Chemosphere* 82 (11), 1518e1532. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.018>.
2. Capkin, E., Ozcelep, T., Kayis, S., Altinok, I., 2017. Antimicrobial agents, triclosan, chloroxylenol, methylisothiazolinone and borax, used in cleaning had genotoxic and histopathologic effects on rainbow trout. *Chemosphere* 182, 720e729. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.093>.
3. Nowak, M., Zawadzka, K., Lisowska, K., 2020. Occurrence of methylisothiazolinone in water and soil samples in Poland and its biodegradation by *Phanerochaete chrysosporium*. *Chemosphere*, 126723. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126723
4. Wieck, S., Olsson, O., Kümmerer, K., 2016. Possible underestimations of risks for the environment due to unregulated emissions of biocides from households to wastewater. *Environ. Int.* 94, 695e705. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.07.007>.

Optimalizacja zarodnikowania grzybów z rodzaju *Trichoderma* z wykorzystaniem podłoży stałych i płynnych

Michał Pylak, Karolina Oszust, Magdalena Frąć

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk

m.pylak@ipan.lublin.pl

biopreparat, *Trichoderma* spp., optymalizacja, rolnictwo ekologiczne

Rolnictwo ekologiczne jest systemem gospodarowania o zrównoważonej produkcji, opartej na zastosowaniu substancji naturalnych pochodzenia biologicznego i mineralnego, z wyłączeniem chemicznych środków ochrony roślin. Dlatego też, jednym z głównych wyzwań dotyczących tego sposobu uprawy jest odpowiednia ochrona roślin przed patogenami, zapewnienie dobrego plonowania i wysokiej jakości produktu. Rozwiązaniem tego problemu mogą być preparaty zawierające mikroorganizmy pożyteczne. Preparaty te mogą być stosowane w rolnictwie ekologicznym, a ich skuteczność może być porównywalna do środków konwencjonalnych [1].

Do jednych z najczęściej wykorzystywanych w biokontroli mikroorganizmów należą grzyby z rodzaju *Trichoderma*, które wykazują zdolność hamowania wzrostu wielu fitopatogenów m.in. *Botrytis* spp., *Phytophthora* spp., lub *Fusarium* spp. Ich działanie jest wieloczynnikowe i opiera się na konkurencji o składniki odżywcze w glebie, inhibicji wytwarzania lub inaktywacji enzymów organizmów patogenicznych, mykopasożytnictwie poprzez produkcję chitynaz, sekrecji substancji antybiotycznych np. gliowiryny, czy indukcji odporności systemicznej u roślin [2].

Wykazano, że izolaty środowiskowe mikroorganizmów wykorzystywanych w biopreparatach są bardziej skuteczne w hamowaniu wzrostu patogenów szczególnie wtedy, kiedy są stosowane w tej samej strefie klimatycznej, z której zostały wyodrębnione [3]. Biorąc pod uwagę produkcję biopreparatu opartego o mikroorganizmy będące izolatami środowiskowymi należy liczyć się z tym, że ich zdolność wzrostu na dostępnych podłożach mikrobiologicznych może nie być optymalna. Opracowując formułację biopreparatu z wykorzystaniem grzybów z rodzaju *Trichoderma* zazwyczaj naukowcy koncentrują się m. in. na uzyskaniu wydajnej produkcji zarodników. W związku z tym celem przeprowadzonych badań, dążących do opracowania biopreparatu, była optymalizacja podłoża namnażającego dla 11 izolatów środowiskowych grzybów z rodzaju *Trichoderma*, aby zwiększyć produkcję zarodników. Przeprowadzone badania obejmowały porównanie zdolności do wytwarzania zarodników przez poszczególne izolaty na 16 podłożach stałych i płynnych, zarówno komercyjnych jak i specjalnie w tym celu przygotowanych oraz określenie najlepszych warunków zarodnikowania – najlepszego podłoża dla każdego z badanych izolatów. Intensywność zarodnikowania została wstępnie określona na podstawie intensywności wzrostu grzybów na badanych podłożach.

Badania tego typu są niezbędnym elementem procesu jakim jest opracowywanie nowych biopreparatów, gdyż dzięki nim można zmniejszyć koszt procesu, a także zwiększyć jego efektywność.

1. Pylak, M.; Oszust, K.; Frąć, M. Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2019, 18, 597–616.
2. du Jardin, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 2015, 196, 3–14, doi:10.1016/j.scienta.2015.09.021.
3. Fikri, A.S.I.; Rahman, I.A.; Nor, N.S.M.; Hamzah, A. Isolation and identification of local bacteria endophyte and screening of its antimicrobial property against pathogenic bacteria and fungi. *AIP Conf. Proc.* 2018, 1940, doi:10.1063/1.5027987.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

Optimization of sporulation fungi belonging to *Trichoderma* genus with the use of liquid and solid media

Michał Pylak, Karolina Oszust, Magdalena Frąć

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences

m.pylak@ipan.lublin.pl

biopreparation, *Trichoderma* spp., optimization, organic farming

Organic farming is a crop management strategy that ensures balanced production based on the use of natural substances of biological or microbial origin, without the use of chemical pest control and plant protection methods. One of the main challenges in this type of farming is sufficient protection of plants against pathogens and ensuring high quality of the final product. Biopreparations contacting beneficial microorganisms might be a solution to this problem. This type of treatment is allowed to be used in organic farming and its efficiency might be compared to conventional, commercially used treatments[1].

One of the most commonly used in biocontrol of fungal plant pathogens microorganisms are fungi belonging to *Trichoderma* genus, which can inhibit the growth of many phytopathogens such as *Botrytis* spp., *Phytophthora* spp. or *Fusarium* spp. Their way of action is multifactorial and is based on nutrients competition, mycoparasitism - chitinase production, antibiotics secretion – gliovirin and many more [2].

It has been proved that environmental isolates of beneficial microorganisms are more effective against local pathogens [3]. Considering manufacturing biopreparation based on environmental isolates it is important to examine the growth of isolates on commercially available media. When developing biopreparations formulations using fungi of the *Trichoderma* genus, scientists focus on the optimization of the sporulation. Therefore, the aim of this research, aimed at developing a biopreparation, was to optimize the propagation medium for 11 environmental isolates of *Trichoderma* fungi in order to increase spore's production. The conducted research included the comparison of the ability to produce spores by individual isolates on 16 solid and liquid media, both commercial and newly composed, and determination of the media composition and culture conditions for efficient sporulation of each tested isolate. Sporulation intensity was initially determined on the basis of the intensity of fungal growth on the examined media..

Research of this type is an indispensable element of the process of developing new biopreparations, because as a result of them it is possible to reduce the cost of the process and increase its efficiency.

1. Pylak, M.; Oszust, K.; Frąć, M. Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2019, 18, 597–616.
2. du Jardin, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 2015, 196, 3–14, doi:10.1016/j.scienta.2015.09.021.
3. Fikri, A.S.I.; Rahman, I.A.; Nor, N.S.M.; Hamzah, A. Isolation and identification of local bacteria endophyte and screening of its antimicrobial property against pathogenic bacteria and fungi. *AIP Conf. Proc.* 2018, 1940, doi:10.1063/1.5027987.

This paper was financed by The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR /2018

Mykochemiczna analiza owocników *Agaricus bisporus* z trzech rzutów – oznaczenie biopierwiastków i kwasów fenolowych

Jan Lazur¹, Monika Trepa¹, Agata Krakowska², Katarzyna Sulkowska-Ziaja¹, Bożena Muszyńska¹

¹Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmacji, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum,

²Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmacji, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

janlazur@gmail.com

Słowa kluczowe: *Agaricus bisporus*, kwasy fenolowe, biopierwiastki, mykochemia

Agaricus bisporus, znany również jako pieczarka dwuzarodnikowa, jest jednym z najczęściej spożywanych i uprawianych grzybem jadalnym na świecie. Swoją popularność zawdzięcza nie tylko smakowi i zapachowi, ale także bogatej zawartości składników odżywczych, takich jak błonnik, niezbędne aminokwasy czy nienasycone kwasy tłuszczowe [1]. Możliwość kontroli środowiska wzrostu jak i składu kompostu stosowanego w komercyjnych uprawach *A. bisporus* umożliwia uzyskanie owocników o podwyższonej wartości odżywczej.

Celem badań było określenie zawartości kwasów fenolowych i biopierwiastków, takich jak magnez, cynk, w ekstraktach z owocników *A. bisporus* pochodzących z trzech rzutów uprawy oraz ocena ich aktywności antyoksydacyjnej.

Próbki *A. bisporus* pobrano z trzech rzutów hodowlanych – po 2, 3 i 4 tygodniach uprawy z wierzchniej warstwy owocników z upraw komercyjnych w Polsce. Analizę ilościową kwasów fenolowych przeprowadzono metodą HPLC w układzie faz odwróconych z detektorem DAD. Oznaczono związki fenolowe: kwas galusowy, kwas *p*-hydroksybenzoesowy, rutozyd i kwercetynę. Analizę całkowitej ilości fenoli wykonano wykorzystując metodą Folina–Ciocalteu. Dodatkowo aktywność antyoksydacyjną ekstraktu otrzymanego z 0,01 g sproszkowanego materiału grzybowego zmierzono metodą redukcji rodnika DPPH.

Otrzymane wyniki wskazują, że owocniki *A. bisporus* mają potencjalne działanie antyoksydacyjne dla organizmu człowieka. Najcenniejsze pod względem zawartości składników odżywczych oraz aktywności przeciwutleniającej jest pierwszy i trzeci z trzech przebadanych rzutów uprawowych *A. bisporus*. Wyniki przeprowadzonych eksperymentów mogą posłużyć jako potencjalne wskazania dla hodowców pieczarek białych, odnośnie sposobu uprawy tego gatunku grzyba w warunkach komercyjnych w celu uzyskania owocników o najwyższej zawartości biologicznie czynnych substancji.

1. Muszyńska, B., Kała, K., Rojowski, J., Grzywacz, A., & Opoka, W. (2017). Composition and biological properties of *Agaricus bisporus* fruiting bodies – a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(3), 173-182.

Mycochemical analysis of *Agaricus bisporus* fruiting bodies from three flushes – bioelements and phenolic acids determination

Jan Lazur¹, Monika Trepa¹, Agata Krakowska², Katarzyna Sulkowska-Ziaja¹, Bożena Muszyńska¹

¹ Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University Medical College

² Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University Medical College

janlazur@gmail.com

Key words: *Agaricus bisporus*, phenolic acids, bioelements, mycochemistry

Agaricus bisporus, also known as a white button mushroom, is one of the most commonly eaten and cultivated edible mushroom in the world. Its popularity is due not only to its taste and aroma but also to the rich content of nutrients such as dietary fiber, essential aminoacids or unsaturated fatty acids [1]. Controlled environment and composition of compost used in commercial cultivation of *A. bisporus* make obtaining fruiting bodies with enhanced nutritional value possible.

The aim of this research was to determine the amounts of phenolic acids and bioelements like magnesium, zinc in extracts from *A. bisporus* fruiting bodies obtained from three flushes of cultivation and to evaluate their antioxidant activity.

The samples of *A. bisporus* were taken from three flushes – after 2, 3 and 4 weeks of cultivation from the surface layer of fruiting bodies from a commercial farm in Poland. Phenolic acids quantitatively analysis was performed by reverse-phase HPLC with DAD detector. The following phenolic compounds were found: gallic acid, *p*-hydroxynezoic acid, rutoside and quercetin. Total phenols analysis was determined by the Folin–Ciocalteu method. Additionally, antioxidant activity was determined by DPPH analysis using DPPH radical on extract obtained from 0.01 g powdered mushroom material.

The fruiting bodies of *A. bisporus* have a potential antioxidant effect on the human body. The most valuable in terms of dietary and nutrition substances and antioxidant activity is the first and the third of three examined *A. bisporus* cultivation flushes. Results from the experiment can be used as potential indications for white button mushroom cultivators how to cultivate this species in commercial conditions to obtain fruiting bodies with the highest content of biological active substances.

1. Muszyńska, B., Kała, K., Rojowski, J., Grzywacz, A., & Opoka, W. (2017). Composition and biological properties of *Agaricus bisporus* fruiting bodies – a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(3), 173-182.

Różnorodność przedstawicieli rodziny Mucoraceae izolowanych z wołowiny sezonowanej na sucho

Grzegorz Ostrowski, Julia Pawłowska

Instytut Biologii Ewolucyjnej, Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego

g.ostrowski@student.uw.edu.pl

Słowa kluczowe: Mucoraceae, enzymy proteolityczne, mięso

W tradycyjnych metodach na powierzchni dojrzewającego mięsa rozwijają się różne mikroorganizmy. Większość z nich jest obojętna dla tego procesu, jednak niektóre nawet w warunkach chłodniczych zapewnianych w trakcie dojrzewania, powodują psucie się mięsa i straty produktu. Podobnie jak w przypadku dojrzewających serów mogą istnieć także mikroorganizmy poprawiające smak i strukturę mięsa w trakcie sezonowania. Wiele dowodów wskazuje na takie właściwości grzybów z rodzaju *Thamnidium* [1]. Należą one do rodziny Mucoraceae, której przedstawiciele znajdują zastosowanie w przemyśle spożywczym. Wykorzystuje się je do fermentacji soi w produktach takich jak *meju*, powszechnie wykorzystywanego w kuchni koreańskiej, a także dojrzewania serów pleśniowych takich jak *tomme de savoie* [2]. Szczególnie istotne w tych procesach mogą być interakcje grzybów z bakteriami.

Celem badań było scharakteryzowanie przedstawicieli rodziny Mucoraceae występujących na odchodach gryzoni i dojrzewającej wołowinie pod względem ich zdolności proteolitycznych, a także znalezienie ich potencjalnych bakteryjnych partnerów, którzy mogliby ułatwić kolonizację sezonowanego mięsa.

W ramach realizacji projektu wyizolowano 53 przedstawicieli Mucoraceae pochodzących z odchodów gryzoni oraz sezonowanej wołowiny umieszczonych w komorach wilgotnych. Pozyskano również 17 dodatkowych szczepów z kolekcji kultur Uniwersytetu Warszawskiego oraz Westerdijk Institute. Następnie dla 17 przedstawicieli różnych gatunków zmierzono aktywność kolagenolityczną oraz żelatynolityczną.

Mucor luteus i *Mucor aligarensis* wykazywały się dobrą zdolnością upłynniania żelatyny. *M. aligarensis* wyizolowany z próbki mięsa jest dodatkowo zdolny do wzrostu w niskich temperaturach, co czyni go dobrym kandydatem do dalszych badań. Kolejnym etapem badań jest izolacja większej liczby szczepów oraz dokładniejsze oznaczenie ich zdolności proteolitycznych, gdyż te mogą się różnić nawet pomiędzy poszczególnymi szczepami w obrębie gatunku.

1. R. Ramanathan, G.G. Mafi, L. Yoder, M. Perry, M. Pfeiffer, D.L. VanOverbeke, Naveena Basappa Maheswarappa, 2020. *Biochemical changes of postmortem meat during the aging process and strategies to improve the meat quality, Meat Quality Analysis*, Academic Press
2. J. Dupont, S. Dequin, T. Giraud, F. Le Tacon, S. Marsit, J. Ropars, F. Richard, M-A. Selosse, 2017. *Fungi as a Source of Food, The Fungal Kingdom*, ASM Press

Badania są częściowo finansowane z projektu NCBR nr TANGO-IV-C/0005/2019-00.

The diversity of the Mucoraceae members family colonising dry aged beef

Grzegorz Ostrowski, Julia Pawłowska

Institute of Evolutionary Biology, Biological and Chemical Research Centre, Faculty of Biology University of Warsaw

g.ostrowski@student.uw.edu.pl

Key words: Mucoraceae, proteolytic enzymes, meat

Different microorganisms can develop on the surface of the meat aged using traditional. Majority of them have no impact on this process. Some of them can cause meat spoilage and a product loss even if meat is properly aged under refrigeration. Similarly to the aged cheeses, some microorganisms could improve the taste and the structure of the meat during the aging. Evidence suggests that fungi of the *Thamnidium* genus may possess these qualities [1]. They are the members of the Mucoraceae family, whose members are already used in the food industry. They are used not only for the soy fermentation in products like *meju*, commonly used in the Korean cuisine, but also during the ripening of the *tomme de savoie* cheese [2]. Interactions between fungi and bacteria may be crucial during these processes.

The goal of this study was characterising the proteolytic activity of the Mucoraceae strains isolated from rodent feces and dry aged beef surface, as well as finding their potential bacterial partners that could facilitate colonisation of the dry aged meat.

In this project 53 Mucoraceae strains were isolated from rodent feces and dry aged beef placed in wet chambers. 17 additional strains were obtained from culture collections of the University of Warsaw and the Westerdijk Institute. Afterwards, 17 representatives of the different species were screened for their gelatinolytic and collagenolytic activity.

Mucor luteus and *Mucor aligarensis* were proven to be capable of liquidising gelatin. *M. aligarensis* isolated from the meat sample is also known for its psychrotolerance, which makes this fungus interesting for further studies. In the future more Mucoraceae strains should be isolated and studied since even strains from the same species may differ in their proteolytic activities.

1. R. Ramanathan, G.G. Mafi, L. Yoder, M. Perry, M. Pfeiffer, D.L. VanOverbeke, Naveena Basappa Maheswarappa, 2020. *Biochemical changes of postmortem meat during the aging process and strategies to improve the meat quality*, Meat Quality Analysis, Academic Press
2. J. Dupont, S. Dequin, T. Giraud, F. Le Tacon, S. Marsit, J. Ropars, F. Richard, M-A. Selosse, 2017. *Fungi as a Source of Food*, The Fungal Kingdom, ASM Press

The research is partially funded as part of the NCBR project no. TANGO-IV-C/0005/2019-00.

Znaczenie Shiitake w przemyśle kosmetycznym

Aleksandra Ściegienna

*Studenckie Koło Naukowe Fitochemików, Wydział Biologii i Biotechnologii,
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej*

ola.sciegienna04@gmail.com

Słowa kluczowe: Shiitake, kosmetyki, naturalne składniki

Grzyby Shiitake (*Lentinula edodes*) od wieków były używane w celach medycznych oraz jako pożywienie. Stanowią bogate źródło biologicznie aktywnych substancji takich jak polisacharydy, witaminy, terpenoidy, fenole, czy polifenole, które wykazują szereg korzystnych właściwości. Wśród nich można wymienić działanie przeciwutleniające, przeciwzmarszczkowe oraz właściwości nawilżające i wybielające, co sprawia, że Shiitake jest idealnym kandydatem do wykorzystania w przemyśle kosmetycznym [1]. Konsumenci coraz częściej domagają się naturalnych składników w produktach kosmetycznych oraz zastąpienia syntetycznych związków, które mogą mieć negatywny wpływ na zdrowie i środowisko [2]. Dodatkowo rozwój genomiki, proteomiki i innych dziedzin nauki stwarza coraz lepsze perspektywy dla zastosowania grzybów, jego składników i ekstraktów w różnego rodzaju preparatach kosmetycznych. Substancje wyizolowane z Shiitake można obecnie znaleźć w kremach nawilżających, balsamach, maściach oraz szczególnie w preparatach do twarzy. Ekstrakty z Shiitake służą do wzmocnienia elastyczności skóry, rozjaśnienia, przyspieszają jej odnowę, działają przeciwzapalnie. Są doskonałym środkiem do demakijażu. *Lentinula edodes* jest induktorem dysmutazy ponadlitenkowej (SOD) i peroksydazy glutationowej (GPx), które są enzymami przeciwutleniającymi chroniącymi skórę przed uszkodzeniami oksydacyjnymi. Przyczyniają się również do odwrócenia procesu zwłóknienia skóry [1,3]. Shiitake jest obecne w preparatach takich jak Pureology NanoWorks Shineluxe czy La Bella Figura Gentle Enzyme Cleanser. W badaniach dotyczących zadowolenia konsumentów z przetestowanych produktów do higieny osobistej zawierających różnego rodzaju ekstrakty, produkty z Shiitake zostały bardzo dobrze ocenione. Szampon oraz maseczka gliniana zdobyły największe uznanie wśród badanych w przedziale wiekowym 20-30 lat, zaś środek oczyszczający skórę został najlepiej odebrany przez osoby w wieku 30-45 lat. Pozytywny odbiór preparatów zawierających Shiitake, dokładniejsze badania i rosnący popyt na naturalne kosmetyki będzie powodował coraz większy wzrost znaczenia tego grzyba w przemyśle kosmetycznym [2].

1. Wu Y., Choi M., Li J., Yang H., Shin H., (2016), Mushroom Cosmetics: The Present and Future, *MDPI Journal Cosmetics*, 3, 22
2. Soto M. L., Parada M., Falque E., Dominguez H., (2018), Personal-Care Products Formulated with Natural Antioxidant Extracts, *MDPI Journal Cosmetics*, 5, 13
3. Liu J., (2002) Biologically active substances from mushrooms in Yunnan, China, *Heterocycles* 57, 157–167

The importance of Shiitake mushrooms in the cosmetics industry

Aleksandra Ściegienna

*Students Scientific Association "Fitochemicy", Department of Biology and Biotechnology,
University of Maria Curie-Skłodowska*

ola.sciegienna04@gmail.com

Key words: Shiitake, cosmetics, natural ingredients

Shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) have been used in medicine and as a food for centuries. They are excellent source of active substances such as polysaccharides, vitamins, terpenoids, phenolics and poliphenolics which have many good properties. These compounds show superb antioxidant, anti-wrinkle, skin whitening, and moisturizing effects, which make them perfect candidates for cosmetics products [1]. What is more, consumers are demanding cosmetics containing natural ingredients as well as are rejecting synthetic chemicals, which may negatively affect on health and environment [2]. Combined with progress in genomics, proteomics and others fields of study, mushrooms can find their way into cosmetics with multiple approaches. Substances isolated from Shiitake mushrooms are incorporated in moisturizer, lotions, ointment and especially in facial cosmetics. They are increasing skin elasticity, brightening it and accelerating its renewal. Shiitake extracts also show anti-inflammatory properties. They are an ideal cleanser. *Lentinula edodes* is also an inducer of superoxidase dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx), two antioxidant enzymes which are known for protecting skin from oxidative damage and reversing fibrosis [1,3]. Shiitake is present in products such as Pureology NanoWorks Shineluxe or La Bella Figura Gentle Enzyme Cleanser. In overall appreciation for tested personal-care products, according to the volunteers Shiitake products were highly ranked. The shampoo and the clay mask gained the greatest approval among the respondents aged 20-30. The skin cleanser reached best notes by people aged 30-45. Positive opinions of preparations containing Shiitake, more detailed research and the growing demand for natural cosmetics will result in an increasing importance of this fungus in the cosmetics industry [2].

1. Wu Y., Choi M., Li J., Yang H., Shin H., (2016), Mushroom Cosmetics: The Present and Future, *MDPI Journal Cosmetics*, 3, 22
2. Soto M. L., Parada M., Falque E., Dominguez H., (2018), Personal-Care Products Formulated with Natural Antioxidant Extracts, *MDPI Journal Cosmetics*, 5, 13
3. Liu J., (2002) Biologically active substances from mushrooms in Yunnan, China, *Heterocycles* 57, 157–167

Lityczne monooksygenazy polisacharydowe (LPMO) jako potężne enzymy oksydacyjne niezbędne w procesie przetwarzania biomasy lignocelulozowej i produkcji nanowłókien celulozowych

Wiktoria Piątek, Justyna Sulej

Zakład Biochemii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

wiktoria.piatek-97@wp.pl

Słowa kluczowe: lityczne monooksygenazy polisacharydowe, enzymy, biomasa lignocelulozowa

Ligninoceluloza jest kompleksem składającym się z celulozy, hemicelulozy i ligniny. Intensywnie badana enzymatyczna konwersja tego materiału, zachodzi poprzez oksydacyjną modyfikację/depolimeryzację ligniny oraz hydrolizę polisacharydów [1]. Przełom w tej dziedzinie nastąpił 10 lat temu wraz z odkryciem enzymów znanych obecnie jako lityczne monooksygenazy polisacharydowe (LPMO), które katalizując oksydacyjne rozszczepianie opornych polisacharydów, umożliwiają hydrolitycznym celulazom bardziej efektywną depolimeryzację biomasy [2]. LPMO są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie, często występują razem z enzymami należącymi do rodziny oksydoreduktaz glukozowo-metanolowo-cholinowych (GMC), takimi jak dehydrogenaza celobiozowa, oksydaza piranozowa, oksydazy polifenolowe czy oksydaza galaktozowa [3,4]. Grzyby są organizmami, u których zidentyfikowano najwięcej różnych LPMO. Lityczne monooksygenazy polisacharydowe są enzymami miedzio-zależnymi, aktywnymi w obecności tlenu cząsteczkowego [5] i donora elektronów. Elektrony dla LPMO mogą być dostarczane z różnych źródeł takich jak oksydoreduktazy GMC [6, 7], związki fenolowe (kwas askorbinowy, kwas galusowy, lignina) [8, 9, 10], a ostatnio wykazano, że także barwniki fotosyntetyczne [11]. Jednak mechanizmy katalityczne LPMO są nadal przedmiotem dyskusji naukowych. Obecnie LPMO (EC 1.14.99.53-56) są zgrupowane w siedmiu rodzinach CAZy (AA9-AA11 i AA13-AA16), różniących się między sobą sekwencją aminokwasów. Enzymy te są powszechnie stosowane, w połączeniu z celulazami, do zwiększenia stopnia rozkładu biomasy roślinnej. Ostatnio znalazły także zastosowanie jako narzędzie do produkcji nanofibrylowanej celulozy (NFC), ponieważ LPMO przeprowadzają rozkład włókien celulozowych drewna [12]. W niniejszej pracy dokonano krótkiego przeglądu dotychczasowej wiedzy na temat LPMO, w tym możliwości ich praktycznego wykorzystania.

1. Wu Y., Choi M., Li J., Yang H., Shin H., (2016), Mushroom Cosmetics: The Present and Future, *MDPI Journal Cosmetics*, 3, 22
2. Soto M. L., Parada M., Falque E., Dominguez H., (2018), Personal-Care Products Formulated with Natural Antioxidant Extracts, *MDPI Journal Cosmetics*, 5, 13
3. Liu J., (2002) Biologically active substances from mushrooms in Yunnan, China, *Heterocycles* 57, 157–167

Lytic polysaccharide monooxygenases (LPMOs) as powerful oxidative enzymes essential in processing of lignocellulosic biomass and production of cellulose nanofibers

Wiktoria Piatek, Justyna Sulej

Department of Biochemistry and Biotechnology, Institute of Biological Sciences, Maria Curie-Skłodowska University

wiktoria.piatek-97@wp.pl

Key words: lytic polysaccharide monooxygenases, enzymes, lignocellulosic biomass

Lignocellulose is a complex based mainly on cellulose, hemicelluloses and lignin. The enzymatic conversion of this material has been intensively studied, through two main classes of reactions: oxidative modification/depolymerization of lignin and hydrolysis of polysaccharides [1].

A breakthrough in this field occurred 10 years ago with the discovery of enzymes now known as lytic polysaccharide monooxygenases (LPMOs), which by catalyzing the oxidative cleavage of resistant polysaccharides allow hydrolytic cellulases to depolymerize biomass more efficiently [2]. LPMOs are widely distributed in the Tree of Life, often occur together with enzymes belonging to the glucose-methanol-choline oxidoreductases (GMC), such as cellobiose dehydrogenase, pyranose oxidase, polyphenol oxidases or galactose oxidase [3, 4]. Fungi are the organisms where we find the highest number of different LPMO families. LPMOs are copper-dependent enzymes, active only in the presence of molecular oxygen [5] and an electron donor. Electrons for LPMOs can be provided by multiple sources, such as GMC oxidoreductases [6, 7], phenolic compounds (ascorbic acid, gallic acid, lignin) [8, 9, 10], and more recently from photosynthetic pigments [11]. However, the catalytic mechanisms of LPMOs are still the subject of scientific debate. Nowadays, LPMOs (EC 1.14.99.53-56) are grouped in seven CAZy families (AA9-AA11 and AA13-AA16), which are differentiated by their amino acid sequences. This biocatalyst are commonly used in synergy with cellulases to enhance biomass deconstruction and recently also as a tool to produce nanofibrillated cellulose (NFC) based on the fact that LPMO action facilitates the disruption of wood cellulose fibers [12]. In this work a short review of previous knowledge about LPMOs, including the possibility of their practical use was accomplished.

1. Cragg, S. M., Beckham, G. T., Bruce, N. C., Bugg, T. D., Distel, D. L., Dupree, P., & Zimmer, M. (2015). Lignocellulose degradation mechanisms across the Tree of Life. *Current opinion in chemical biology*, 29, 108-119.
2. Bissaro, B., Várnai, A., Röhr, A. K., & Eijsink, V. G. (2018). Oxidoreductases and reactive oxygen species in conversion of lignocellulosic biomass. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 82(4).
3. Andlar, M., Rezić, T., Mardetko, N., Kracher, D., Ludwig, R., & Šantek, B. (2018). Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. *Engineering in Life Sciences*, 18(11), 768-778.
4. Frommhagen, M., Mutte, S. K., Westphal, A. H., Koetsier, M. J., Hinz, S. W., Visser, J., ... & Kabel, M. A. (2017). Boosting LPMO-driven lignocellulose degradation by polyphenol oxidase-activated lignin building blocks. *Biotechnology for biofuels*, 10(1), 1-16.
5. Bissaro, B., Forsberg, Z., Ni, Y., Hollmann, F., Vaaje-Kolstad, G., & Eijsink, V. G. (2016). Fueling biomass-degrading oxidative enzymes by light-driven water oxidation. *Green chemistry*, 18(19), 5357-5366.
6. Garajova, S., Mathieu, Y., Beccia, M. R., Bennati-Granier, C., Biaso, F., Fanuel, M., ... & Berrin, J. G. (2016). Single-domain flavoenzymes trigger lytic polysaccharide monooxygenases for oxidative degradation of cellulose. *Scientific reports*, 6(1), 1-9.
7. Kracher, D., Scheiblbrandner, S., Felice, A. K., Breslmayr, E., Preims, M., Ludwicka, K., ... & Ludwig, R. (2016). Extracellular electron transfer systems fuel cellulose oxidative degradation. *Science*, 352(6289), 1098-1101.
8. Chia-wen, C. H., Cannella, D., Jørgensen, H., Felby, C., & Thygesen, L. G. (2015). Cellobiohydrolase and endoglucanase respond differently to surfactants during the hydrolysis of cellulose. *Biotechnology for biofuels*, 8(1), 1-10.
9. Rodríguez-Zúñiga, U. F., Cannella, D., de Campos Giordano, R., Giordano, R. D. L. C., Jørgensen, H., & Felby, C. (2015). Lignocellulose pretreatment technologies affect the level of enzymatic cellulose oxidation by LPMO. *Green chemistry*, 17(5), 2896-2903.
10. Hu, J., Arantes, V., Pribowo, A., Gourlay, K., & Saddler, J. N. (2014). Substrate factors that influence the synergistic interaction of AA9 and cellulases during the enzymatic hydrolysis of biomass. *Energy & Environmental Science*, 7(7), 2308-2315.
11. Cannella, D., Möllers, K. B., Frigaard, N. U., Jensen, P. E., Bjerrum, M. J., Johansen, K. S., & Felby, C. (2016). Light-driven oxidation of polysaccharides by photosynthetic pigments and a metalloenzyme. *Nature communications*, 7(1), 1-8.
12. Moreau, C., Tapin-Lingua, S., Grisel, S., Gimbert, I., Le Gall, S., Meyer, V., ... & Villares, A. (2019). Lytic polysaccharide monooxygenases (LPMOs) facilitate cellulose nanofibrils production. *Biotechnology for biofuels*, 12(1), 1-13.

Ocena aktywności przeciwdrobnoustrojowej nanocząstek srebra pochodzenia biologicznego syntetyzowanych przez szczepy *Trichoderma viride* KKP792, *T. citrinoviride* IM6325 i *T. koningii* IM0956

Aleksandra Tończyk¹, Aleksandra Kaczorek¹, Katarzyna Zawadzka², Katarzyna Lisowska²

¹Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne „Bio-Mik”,

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

²Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

aleksandra.tonczyk@edu.uni.lodz.pl

Słowa kluczowe: nanocząstki srebra, aktywność przeciwdrobnoustrojowa, biosynteza, *Trichoderma* sp.

Gwałtowny rozwój antybiotykooporności drobnoustrojów chorobotwórczych skutkuje potrzebą opracowania alternatywnych środków przeciwdrobnoustrojowych. Jednym z możliwych rozwiązań tego problemu jest zastosowanie nanocząstek metalicznych, wśród których najbardziej obiecujące okazują się nanocząstki srebra. Nanosrebro wykazuje szereg właściwości przekładających się na wysoką skuteczność, zarówno wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, jak i grzybów [1,2]. Najbardziej prawdopodobny mechanizm działania nanocząstek srebra na drobnoustroje obejmuje interakcje z powierzchnią komórki, prowadzące następnie do zaburzenia jej funkcji życiowych [3]. Istnieją trzy metody syntezy nanocząstek metalicznych: fizyczna, chemiczna i biologiczna [1,2], która została wykorzystana w niniejszej pracy.

Nanocząstki srebra wyprodukowane zostały z wykorzystaniem trzech szczepów grzybów strzępkowych z rodzaju *Trichoderma* – *T. viride* KKP792, *T. citrinoviride* IM6325 i *T. koningii* IM0956. *Trichoderma* sp. to grupa grzybów powszechnie występujących w glebie, znajdujących zastosowanie w różnych dziedzinach biotechnologii [4]. Podczas realizacji niniejszych badań zastosowano zewnątrzkomórkową syntezę nanocząstek srebra z wykorzystaniem AgNO₃ jako prekursora nanocząstek. Następnie zbadano aktywność przeciwdrobnoustrojową uzyskanych nanocząstek wobec trzech drobnoustrojów chorobotwórczych – *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 i *Candida albicans* ATCC 10231. W tym celu zastosowano metodę mikrorozcieńczeń, zgodną z normami M07 i M27 CLSI. Wyznaczono także wartości MIC i MBC.

Uzyskane wyniki wskazały, że nanocząstki srebra syntetyzowane przez szczepy *Trichoderma* wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe wobec badanych mikroorganizmów. Drożdże *C. albicans* były najbardziej wrażliwe wobec badanych nanocząstek – we wszystkich trzech przypadkach uzyskano prawie całkowite zahamowanie wzrostu już przy stężeniu 10 µM nanocząstek. Bakterie *E. coli* wykazały podobną wrażliwość. Były jednak mniej podatne na działanie nanocząstek srebra zsyntetyzowanych przez szczep *T. koningii*. Bakterie *S. aureus* były najmniej wrażliwe wobec zastosowanych nanocząstek srebra – niemal całkowite zahamowanie wzrostu wykazano przy stężeniu równym 20 µM w przypadku nanocząstek produkowanych przez szczepy *T. viride* i *T. citrinoviride* oraz 40 µM w przypadku nanocząstek pochodzących od *T. koningii*.

Podsumowując, uzyskane wyniki potwierdziły, że wszystkie zastosowane w badaniu nanocząstki srebra wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe. Spośród nich najmniej skuteczne przeciw badanym szczepom bakterii okazały się nanocząstki zsyntetyzowane przez szczep *T. koningii*. Ponadto wykazano, że bakterie Gram-dodatnie wykazują mniejszą wrażliwość wobec nanocząstek w porównaniu do bakterii Gram-ujemnych.

Evaluation of the antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles synthesized by *Trichoderma viride* KKP792, *T. citrinoviride* IM6325 and *T. koningii* IM0956

Aleksandra Tończyk¹, Aleksandra Kaczorek¹, Katarzyna Zawadzka², Katarzyna Lisowska²

¹Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne „Bio-Mik”,
Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

²Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki

aleksandra.tonczyk@edu.uni.lodz.pl

Key words: silver nanoparticles, antimicrobial activity, biosynthesis, *Trichoderma* sp.

The rapid development of antibiotic resistance among pathogenic microorganisms results in the need of developing alternative antimicrobials. One of the available solutions is the use of metallic nanoparticles, among which silver nanoparticles are the most promising. Nanosilver exhibits remarkable properties resulting in high efficacy against both bacteria and fungi [1,2]. The most probable mechanism of silver nanoparticles action on microorganisms involves interactions with the cell surface, leading to a disturbance of vital cell functions [3]. There are three routes of metallic nanoparticle synthesis, namely physical, chemical and biological [1,2]. In this study, biological synthesis was performed.

Silver nanoparticles were synthesized with the use of three *Trichoderma* strains – *T. viride* KKP792, *T. citrinoviride* IM6325 and *T. koningii* IM0956. *Trichoderma* sp. is a ubiquitous soil-borne fungus, widely used in various fields of biotechnology [4]. Here, extracellular synthesis of silver nanoparticles was applied with the use of AgNO₃ as a nanoparticle precursor. Then, the antimicrobial activity of synthesized silver nanoparticles against three pathogenic microorganisms – *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Candida albicans* ATCC 10231 was investigated using the checkerboard microdilution method, according to the M07 and M27 CLSI norms. MIC and MBC values were also established.

The obtained results showed that silver nanoparticles synthesized by the *Trichoderma* strains exhibited antimicrobial activity against the tested microorganisms. *C. albicans* occurred to be most susceptible to all nanoparticles – almost complete growth inhibition was obtained with nanoparticles at the concentration of 10 µM in all three cases. *E. coli* displayed similar vulnerability, although it was less susceptible to silver nanoparticles originating from the *T. koningii* strain. *S. aureus* turned out to be the most insensitive to silver nanoparticles action. Almost total growth inhibition was demonstrated in the presence of 20 µM concentration of silver nanoparticles from the *T. viride* and *T. citrinoviride* strains and 40 µM in the case of the *T. koningii* strain.

In conclusion, our results indicate that all silver nanoparticles possess antimicrobial activity. Among them, nanoparticles originating from *T. koningii* appeared to be the least efficient against the tested bacteria strains. Moreover, a general tendency of Gram-positive bacteria to be less susceptible to nanosilver was shown.

1. Barros C.H.N., Fulaz S., Stanisic D., Tasic L. 2018. Biogenic Nanosilver against Multidrug-Resistant Bacteria (MDRB). *Antibiotics*, 7(69); DOI: 10.3390/antibiotics7030069
2. Prasher P., Singh M., Mudila H. 2018. Silver nanoparticles as antimicrobial therapeutics: current perspectives and future challenges. *3 Biotech*, 8: 411, DOI: 10.1007/s13205-018-1436-3
3. Franci G., Falanga A., Galdiero S., Palomba L., Rai M., Morelli G., Galdiero M. 2015. Silver Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents, *Molecules*, 20: 8856 – 8874
4. Schuster A., Schmoll M. 2010. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87: 787 – 799