

Autoreferat

Robert Jankowiak



1. Imię i Nazwisko: Robert Jankowiak

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne:

- magister inżynier leśnictwa, Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie, 1996
- doktor nauk leśnych, specjalność - fitopatologia leśna, Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie, 2003

Temat rozprawy: „Mikrobiota towarzysząca kornikowi drukarzowi na świerku [*Picea abies* (L.) H. Karst.] ze szczególnym uwzględnieniem grzybów ofiostomatoidalnych. Praca doktorska. Biblioteka Główna AR w Krakowie

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

- pracownik naukowo-techniczny, 1996-1997, Akademia Rolnicza w Krakowie, Wydział Leśny, Zakład Nasiennictwa i Szkółkarstwa Leśnego,
- asystent naukowo-dydaktyczny, 1997-2003, Akademia Rolnicza w Krakowie, Wydział Leśny, Katedra Fitopatologii Leśnej,
- adiunkt naukowo-dydaktyczny, 2003-obecnie, Akademia Rolnicza (później Uniwersytet Rolniczy w Krakowie) w Krakowie, Wydział Leśny, Katedra Fitopatologii Leśnej.

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego:

Zróżnicowanie gatunkowe i patogeniczność grzybów z grupy *Ophiostoma sensu lato* i *Leptographium sensu lato* związanych z owadami z rodziny kózkowate (Cerambycidae) i ryjkowcowate (Curculionidae) na sośnie zwyczajnej i świerku pospolitym.

Jest to jednotematyczny cykl publikacji naukowych.

Badania te prowadzone były w latach 2006-2012 w ramach dwóch projektów badawczych finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji (2 PO6L 008 28, N N309 049037), których byłem kierownikiem.

b) publikacje wchodzące w skład jednotematycznego cyklu publikacji naukowych:

- I. **JANKOWIAK R.**, ROSSA R. 2007. Filamentous fungi associated with *Monochamus galloprovincialis* and *Acanthocinus aedilis* (Coleoptera: Cerambycidae) in Scots pine. Polish Botanical Journal 52(2): 143-149.
- II. **JANKOWIAK R.**, ROSSA R., BILAŃSKI P. 2007. Contribution to pathogenicity of three blue-stain fungi associated with the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae) to Scots pine in Poland. Phytopathologia Polonica 46: 37-46.
- III. **JANKOWIAK R.**, ROSSA R., BILAŃSKI P. 2009. Wstępne badania nad patogennością trzech grzybów siniznowych związanych z *Tetropium* spp. na świerku pospolitym w Polsce. Leśne Prace Badawcze 70(1): 69-75.
- IV. **JANKOWIAK R.** 2010. Grzyby z grupy *Ophiostoma sensu lato* związane z kózkowatymi, *Monochamus sutor* (L.) i *Rhagium inquisitor* (L.) w południowej Polsce. Sylwan 154(6): 381-387.
- V. **JANKOWIAK R.**, KOLAŘÍK M. 2010. Diversity and pathogenicity of ophiostomatoid fungi associated with *Tetropium* species colonizing *Picea abies* in Poland. Folia Microbiologica 55 (2):145-154.
- VI. **JANKOWIAK R.**, BILAŃSKI P. 2013. Diversity of ophiostomatoid fungi associated with the large pine weevil, *Hylobius abietis* and infested Scots pine seedlings in Poland. Annals of Forest Science DOI 10.1007/s13595-013-0266-z
- VII. **JANKOWIAK R.**, BILAŃSKI P. 2013. Association of the pine-infesting *Pissodes* species with ophiostomatoid fungi in Poland. European Journal of Forest Research 132: 523-534.

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

Chrzęszcze z rodziny kózkowate (Cerambycidae) i ryjkowcowate (Curculionidae) zaliczane są do najgroźniejszych szkodników drzew leśnych w Polsce. Spośród wielu gatunków kózkowatych i ryjkowcowatych rozwijających się w drzewostanach świerkowych, bądź sosnowych do najważniejszych należą owady z rodzajów: *Acanthocinus* – tycz, *Monochamus* – żerdzianka, *Tetropium* – ściga, *Hylobius* – szeliniak oraz *Pissodes* – smolik. Te szkodliwe owady zasługują na szczególną uwagę ze względu na ich masowe pojawy oraz wysoki rozmiar szkód powodowanych w lasach. Owady te zwykle atakują osłabione drzewa, często zasiedlone już przez inne owady, jednakże, podczas masowego pojawu mogą atakować i zabijać także zdrowe drzewa (np. *Tetropium* spp. na świerku). Szczególnie niebezpieczny wydają się być *Hylobius abietis*, którego chrzęszcze podczas żeru regeneracyjnego masowo uszkadzają 1-3 letnie sadzonki sosnowe.

Owady znane są ze współzycia z grzybami, dosyć różnorodnymi pod względem taksonomicznym. Są to najczęściej workowce należące do rzędu Microascales i rzędu Ophiostomatales. Grzyby te, pomimo tego, że należą do odrębnych grup monofiletycznych, w toku ewolucji wykształciły podobne mechanizmy adaptacji morfologicznej, polegające m. in. na wydłużeniu askomat i konidiomat oraz wytworzeniu lepkich zarodników. Obecnie w rzędzie Ophiostomatales wyróżnia się pięć rodzajów oraz 18 kompleksów gatunkowych. Dobrze filogenetycznie zdefiniowane rodzaje to: *Ophiostoma sensu stricto*, *Raffaelea s. str.*, *Ceratocystiopsis*, *Fragosphaeria* i *Graphilbum* (znany wcześniej jako *Pesotum fragrans* complex). Jednakże, wiele kompleksów gatunkowych jest słabo rozpoznana i zalicza się je do grupy *Ophiostoma sensu lato* lub *Leptographium sensu lato*. Do *Ophiostoma s. l.* należą gatunki z *Ophiostoma s. str.*, *Sporothrix schenckii* – *O. stenoceras* complex oraz z kilku innych kompleksów gatunkowych. Natomiast, *Leptographium sensu lato* (z rodzajami *Grosmannia* i *Leptographium*) obejmuje 10 kompleksów gatunkowych^{1,2}. Większość gatunków należących do rodzajów *Ophiostoma* i *Grosmannia* wytwarza bardzo podobne stadia teleomorficzne (perytecja z długimi szyjkami zawierające szybko rozpadające się worki) lecz różne stadia anamorficzne. Gatunki należące do *Ophiostoma s. l.* cechuje wytwarzanie anamorf typu *Hyalorhinocladiella*-like, *Sporothrix*-like oraz *Pesotum*-like, natomiast grzyby należące do grupy *Leptographium s. l.* produkują anamorfy typu *Leptographium*-like. Grzyby te wraz z gatunkami z rzędu Microascales w literaturze naukowej funkcjonują pod angielską nazwą, jako „ophiostomatoid fungi” – grzyby ofiostomatoidalne lub w szerszym ujęciu jako „blue stain fungi/sapstain fungi” – grzyby siniznowe.

Grzyby z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* zasiedlają różne podłoża, jednak większość z nich jest ściśle powiązana z kornikami żerującymi na drzewach z rodziny Pinaceae (w odróżnieniu od grzybów z rodzaju *Ceratocystis*, które są bardziej związane z roślinami okrytonasiennymi). Najczęstszym objawem obecności tych grzybów są niebieskawe, szare, a nawet czarne przebarwienia drewna, które znacząco obniżają wartość drewna. Oprócz zmian w barwie drewna, niektóre gatunki, dzięki swojej wysokiej patogeniczności mogą powodować groźne choroby drzew, jak np. *Leptographium wagneri* – sprawca zamierania korzeni sosny i daglezi w Ameryce Północnej, czy *Ophiostoma novo-ulmi*, który powoduje holenderską chorobę wiązu^{3,4}.

O ile związki pomiędzy kornikami żerującymi na drzewach iglastych a grzybami zostały dość dobrze opisane, to relacje pomiędzy grzybami a kózkowatymi są właściwie nieznanne. Na naszym kontynencie powiązania pomiędzy tymi grupami organizmów badano głównie w latach 50-tych w

¹De Beer Z.W., Wingfield MJ. 2013. Emerging lineages in the Ophiostomatales. W: Seifert KA, De Beer ZW, Wingfield MJ, (red.) The Ophiostomatoid Fungi: Expanding Frontiers, CBS Biodiversity Series 12. Utrecht: CBS Press. p. 21–46 (w druku).

²De Beer Z.W., Seifert K.A., Wingfield MJ. 2013. A nomenclator for ophiostomatoid genera and species in the Ophiostomatales and Microascales. W: Seifert KA, De Beer ZW, Wingfield MJ, (red.) The Ophiostomatoid Fungi: Expanding Frontiers, CBS Biodiversity Series 12. Utrecht: CBS Press. p. 243–320 (w druku).

³Kirisits T. 2004. Fungal associates of European bark beetles with special emphasis on the ophiostomatoid fungi. W: Lieutier F, Day KR, Battisti A, Gregoire JC, Evans HF (red.) Bark and wood boring insects in living trees in Europe, a synthesis. Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, a Synthesis, Kluwer, Dordrecht, 185–235.

⁴Six D.L. 2012. Ecological and Evolutionary Determinants of Bark Beetle —Fungus Symbioses. *Insects* 3: 339–366.

Szwecji^{5,6} oraz w latach 60-tych w byłej Czechosłowacji⁷, a więc w czasie gdy identyfikacja grzybów metodami molekularnymi nie była jeszcze stosowana. Informacje na temat przenoszenia zarodników grzybów z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* przez ryjkowcowate są jeszcze bardziej ograniczone. Badania przeprowadzone we Francji⁸ wskazują, że *H. abietis* jest skutecznym wektorem grzyba *Leptographium procerum*, natomiast w Anglii⁹ ryjkowiec ten przenosi grzyba *L. alethinum*. Z kolei *Ceratocystis minuta* i trzy inne gatunki z rodzaju *Ophiostoma* były sporadycznie stwierdzane w powiązaniu z *Pissodes pini* we Szwecji^{10,11}, zaś *Pissodes castaneus* uznaje się jako potencjalnego wektora *Leptographium serpens* na *Pinus pinaster* w Hiszpanii¹². Stosunkowo niewiele wiadomo także o patogeniczności grzybów przenoszonych przez kózkowate i ryjkowcowate. Wiedza ta jest niezwykle ważna, gdyż kilka gatunków z rodzaju *Leptographium* przenoszonych przez te owady wykazuje wysoki stopień wirulencji wobec swoich roślin żywicielskich¹³.

Cel naukowy prac

Przyjęto następujące hipotezy badawcze:

- grzyby należące do *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* towarzyszą pospolicie owadom z rodziny kózkowate (Cerambycidae) i ryjkowcowate (Curculionidae),
- skład gatunkowy i ilościowy grzybów z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* w dużym stopniu zależy od lokalizacji geograficznej oraz składu gatunkowego drzewostanu,
- niektóre grzyby związane z kózkowatymi są silnie patogeniczne w stosunku do sosny zwyczajnej i świerka pospolitego. W związku z tym, mogą one współuczestniczyć w procesie zamierania drzew po ataku owadów.

Głównym celem badań była molekularna i morfologiczna identyfikacja grzybów z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.*, które towarzyszyły wybranym gatunkom kózkowatych i ryjkowcowatych na sośnie zwyczajnej i świerku pospolitym.

Szczegółowe cele badań były następujące:

- określenie składu gatunkowego grzybów z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* oraz częstotliwości ich występowania w powiązaniu z żerdzianką sosnowką (*Monochamus galloprovincialis*), tyczem cieślą (*Acanthocinus aedilis*) (**publikacja nr I**), rębaczem pstrym (*Rhagium inquisitor*) (**IV**), szeliniakiem sosnowcem (*Hylobius abietis*) (**VI**), smolikiem

⁵Mathiesen, A. 1950. Über einige mit Borkenkäfern assoziierten Bläuepilze in Schweden. Oikos 2: 275-308.

⁶Mathiesen-Käärik A. 1953. Eine Übersicht über die gewöhnlichsten mit Borkenkäfern assoziierten Bläuepilze in Schweden und einige für Schweden neue Bläuepilze. Meddn St Skogforsk 43: 1-74.

⁷Kotýnková-Sychrová, E. 1966. Mykoflora chodeb kůrovců v Československu. Česká Mycol. 20: 45-53.

⁸Viiiri H. 2004. Fungi associated with *Hylobius abietis* and other weevils. W: Lieutier F, Day KR, Battisti A, Gregoire JC, Evans HF (red.) Bark and wood boring insects in living trees in Europe, a synthesis. Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, a Synthesis, Kluwer, Dordrecht, 380-393.

⁹Jacobs K., Wingfield MJ., Uzunovic A., Frisullo S. 2001. Three new species of *Leptographium* from pine. Mycol. Res. 105:490-499.

¹⁰Mathiesen-Käärik A. 1953. Eine Übersicht über die gewöhnlichsten mit Borkenkäfern assoziierten Bläuepilze in Schweden und einige für Schweden neue Bläuepilze. Meddn St Skogforsk 43: 1-74.

¹¹Mathiesen-Käärik A. 1960. Studies on the ecology, taxonomy and physiology of Swedish insect-associated blue-stain fungi, especially the genus *Ceratocystis*. Oikos 11:1-25.

¹²Pestaña M., Santolomazza-Carbone S. 2010. Mutual benefit interactions between banded pine weevil *Pissodes castaneus* and blue-stain fungus *Leptographium serpens* in maritime pine. Agric. For. Entomol. 12: 371-379.

¹³Zanzot JW., Matusick G., Eckhardt LG. 2010. Ecology of root-feeding beetles and their associated fungi on Longleaf Pine in Georgia. Environ. Entomol. 39(2): 415-423.

znaczonym (*Pissodes castaneus*), smolikiem drągwinowcem (*Pissodes piniphilus*) i smolikiem sosnowcem (*Pissodes pini*) (VII) na sośnie oraz z żerdzianką szewcem (*Monochamus sutor*), rębaczem pstrym (IV), ściągą matową (*Tetropium fuscum*) i ściągą lśniącą (*Tetropium castaneum*) (V) na świerku. Identyfikacje grzybów oparto o kryteria morfologiczne (I, IV-VII) jak i molekularne (IV-VII). Identyfikację molekularną grzybów przeprowadzono na podstawie porównania sekwencji obszarów ITS rDNA (ITS1-5.8 S-ITS2), LSU rRNA i fragmentu genu β -tubuliny reprezentatywnych kultur grzybów z sekwencjami referencyjnymi uzyskanymi z bazy NCBI (GenBank) oraz na podstawie analizy filogenetycznej metodą maksymalnej wiarygodności (ML) i metodą Bayes'a (BI) (VI-VII) oraz metodą minimalnej odległości (ME) i największej oszczędności (MP) (V).

- ocena wpływu różnych czynników środowiskowych na zróżnicowanie gatunkowe grzybów towarzyszących kózkowatym i ryjkowcowatym na przykładzie *R. inquisitor*, *Tetropium* spp. oraz *H. abietis* (IV-VI),
- określenie roli kózkowatych i ryjkowcowatych jako skutecznych wektorów dla patogenicznych grzybów z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* (I, IV-VII),
- ustalenie stopnia patogeniczności wybranych gatunków grzybów z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* z wykorzystaniem:
 - 2-letnich sadzonek świerka (V),
 - 40-letnich świerków (III) i 55-letnich sosn (II).

Omówienie osiągniętych wyników

Izolacje, identyfikacja grzybów oraz analiza filogenetyczna

W trakcie badań z 2519 odłowionych lub uzyskanych z hodowli laboratoryjnej chrząszczy, 821 larw, 1231 żerowisk uzyskano łącznie 5260 izolatów grzybów (**publikacje: I, IV-VII**). Identyfikacja grzybów na podstawie cech morfologicznych oraz metod molekularnych wykazała, że uzyskane izolaty grzybów reprezentowały 27 taksony. Analiza filogenetyczna wykazała, że taksony te należały do trzech linii filogenetycznych w obrębie rzędu Ophiostomatales. Pierwszą linię tworzyły gatunki należące do *Leptographium s. l.*, drugą formowały gatunki należące do *Ophiostoma s. l.*, a trzeci kład tworzyły gatunki z rodzaju *Graphilbum*. Wśród zidentyfikowanych taksonów, 8 gatunków należało do *Leptographium s. l.* (*Grosmannia cucullata*, *G. penicillata*, *G. piceiperda*, *G. radiaticola*, *Leptographium lundbergii*, *L. procerum*, *L. truncatum*, *Leptographium* sp.), 13 gatunków do znanych (*Ophiostoma* cf. *abietinum*, *O.* cf. *canum*, *O. floccosum*, *O. minus*, *O. pallidulum*, *O. piceae*, *O. piliferum*, *O. quercus*, *O. saponiodorum*, *O. stenoceras*, *O. tetropii*, *Sporothrix inflata*, *S. variecibatus*) i trzy do nieznanymi nauce gatunków z *Ophiostoma s. l.* Oprócz nich, zidentyfikowano także dwa znane (*Graphilbum* cf. *rectangulosporium*, *Gr. fragrans*) i jeden nieznanymi nauce (*Graphilbum* sp.), gatunki z rodzaju *Graphilbum* (I, IV-VII).

Pierwszy z niezidentyfikowanych gatunków z rodzaju *Ophiostoma* - *Ophiostoma* sp. 2, został stwierdzony w powiązaniu z żerdzianką szewcem i jego sekwencje ITS rDNA wykazywały 97% podobieństwa z sekwencjami grzyba *O. allantosporum* (IV). Drugi gatunek (*Ophiostoma* sp.), został stwierdzony na ciałach chrząszczy szeliniaka sosnowca i w analizie filogenetycznej wykazywał największe pokrewieństwo do *O. aurorae* (VI). Z kolei, *Graphilbum* sp., który został wyizolowany z żerowisk ściąg wykazywał największe pokrewieństwo do *Gra. rectangulosporium* (≤96% podobieństwa) (V). Natomiast niezidentyfikowany gatunek z rodzaju *Leptographium*, który został wyizolowany z żerowisk ściąg na świerku oraz z żerowisk smolika znaczonego na sośnie był najbardziej spokrewniony z *O. aoshimae* (97.8%) (V, VII). Wymienione cztery gatunki grzybów są najprawdopodobniej nowymi taksonami dla nauki. Niejasny pozostaje status taksonomiczny grzyba *Sporothrix* sp., który został stwierdzony w powiązaniu z żerdzianką sosnowką. Gatunek ten został bowiem zidentyfikowany wyłącznie na podstawie cech morfologicznych.

Po raz pierwszy w Polsce stwierdzono obecność następujących gatunków grzybów: *Graphilbum* cf. *rectangulosporium*, *Grosmannia radiaticola*, *G. olivacea*, *Leptographium truncatum*, *Ophiostoma* cf. *canum*, *O. saponiodorum*, *O. tetropii*, *Sporothrix variecibatus* oraz cztery nieznane gatunki z rodzaju *Graphilbum*, *Leptographium* i *Ophiostoma*. Wśród wyizolowanych grzybów po raz pierwszy na sośnie zwyczajnej stwierdzono występowanie następujących gatunków: *G. radiaticola*, *O. saponiodorum* oraz *S. variecibatus*.

Zróznicowanie gatunkowe grzybów z grupy *Ophiostoma* s. l. i *Leptographium* s. l.¹⁴

- *Hylobius abietis*

W wyniku izolacji z chrząszczy i sadzonek uszkodzonych przez żer uzupełniający szeliniaka sosnowca uzyskano 1564 kultur grzybów. Kultury te były reprezentowane przez 16 gatunków grzybów, wśród których dominował *L. procerum* (tabela 1). Gatunek ten został wyizolowany ogółem z 84% chrząszczy. Z innych gatunków stosunkowo często stwierdzano także *O. quercus* (16%). Inne gatunki występowały rzadko. Wśród nich jedynie *L. lundbergii*, *O. floccosum*, *O. piliferum* i *S. inflata* były izolowane z 3,1-3,7% chrząszczy. *Leptographium procerum* był także najczęstszym gatunkiem stwierdzanym w sadzonkach (88% badanych sadzonek). Drugi pod względem częstotliwości występowania był *S. inflata*, który wyizolowano z 26% sadzonek. Uszkodzone sadzonki zasiedlał także licznie *O. quercus*, którego stwierdzono na 10% sadzonek (VI).

¹⁴ Lista gatunków grzybów stwierdzonych w powiązaniu z danym gatunkiem owada znajduje się w tabeli 1

- ***Pissodes* spp.**

W wyniku izolacji z larw, chrząszczy oraz żerowisk smolika znaczonego uzyskano 416 kultur grzybów, które były reprezentowane przez 11 gatunków (tabela 1). Próbki te były najczęściej zasiedlone przez *L. procerum*, choć grzyb ten wyróżniał się stosunkowo małą częstotliwością występowania (17,5%). W wyniku izolacji z larw, chrząszczy i żerowisk smolika drągowinowca uzyskano 361 kultury grzybów, które należały do 11 gatunków. Próbki te były najczęściej zasiedlone przez *O. minus* (46,3%). Z innych gatunków stosunkowo często stwierdzano także: *L. lundbergii*, *O. quercus* i *Gra. cf. rectangulosporium*. Wśród 442 kultur grzybów uzyskanych z larw, chrząszczy oraz żerowisk smolika sosnowca zidentyfikowano 11 gatunków. Próbki te były najczęściej zasiedlone przez *O. minus* (16,1%) i *O. quercus* (19,1%). Największą różnorodnością gatunkową charakteryzował się zespół grzybów związany ze smolikiem sosnowcem, zaś najmniejszą zespół grzybów związany ze smolikiem znaczonego (VII).

- ***Monochamus sutor***

W wyniku izolacji z larw i chrząszczy uzyskano 118 kultur grzybów. Wśród wyizolowanych kultur wyróżniono pięć gatunków grzybów (tabela 1). Z chrząszczy wyizolowano trzy gatunki grzybów, a zdecydowana większość uzyskanych kultur należała do *O. piceae* i *Ophiostoma* sp. 2. Kultury grzybów uzyskane z larw reprezentowały pięć gatunków grzybów. Większość z nich należała do *G. piceiperda*, *O. piceae* i *G. penicillata* (IV).

- ***Tetropium* spp.**

Na podstawie cech morfologicznych i badań molekularnych ustalono, że 1325 kultur grzybów uzyskanych z próbek powiązanych z owadami z rodzaju *Tetropium* należało do 9 gatunków (tabela 1). Biorąc pod uwagę częstotliwość występowania tych grzybów, najbardziej dominującym gatunkiem stwierdzonym na chrząszczach ścigi matowej i lśniącej był *O. piceae*. Stosunkowo często z chrząszczy izolowano także *G. piceiperda*, *O. tetropii* i *G. cucullata*. W żerowiskach ściąg stwierdzono te same gatunki grzybów jak na ciałach chrząszczy oraz dodatkowo *Leptographium* sp. i *Graphilbum* sp. Gatunki wykryte w żerowiskach miały relatywnie niską częstotliwość występowania (<14 %). Wśród nich, gatunkiem najczęściej stwierdzanym był *O. tetropii*. Stosunkowo wysoką częstotliwością występowania wyróżniały się także *Graphilbum* sp., *O. piceae* i *G. piceiperda*, choć dwa ostatnie gatunki kolonizowały żerowiska znacznie rzadziej. Z wałków świerkowych sztucznie zakażanymi żywymi chrząszczami ścigi matowej (tzw. metoda Furnissa) wyizolowano 5 gatunków grzybów. Wśród nich do najczęstszych należały *G. piceiperda*, *O. piceae* i *O. tetropii* (V).

- ***Monochamus galloprovincialis***

Z 81 chrząszczy i 1062 fragmentów żerowisk żerdzianki sosnowki uzyskano 879 kultur grzybów z grupy *Ophiostoma* s. l i *Leptographium* s. l. Kultury te należały do 6 gatunków grzybów

(tabela 1). Z chrząszczy najczęściej izolowano *O. piceae* (6% osobników), zaś z żerowisk *O. minus* (ponad 40% żerowisk). Pozostałe gatunki występowały stosunkowo rzadko za wyjątkiem, *Gra. cf. rectangulosporium* (8%) (I).

- *Acanthocinus aedilis*

W wyniku izolacji z 88 chrząszczy uzyskano 24 kultury grzybów. Wśród nich wyróżniono trzy gatunki (tabela 1). Wszystkie gatunki charakteryzowały się stosunkową niską częstotliwością występowania, za wyjątkiem *O. minus*. Gatunek ten został stwierdzony na ponad 7% chrząszczy (I).

- *Rhagium inquisitor*

W wyniku izolacji z 90 larw oraz 61 chrząszczy rębacza pstrego uzyskano odpowiednio 89 i 42 kultur grzybów. Wśród wyizolowanych kultur wyróżniono 9 gatunków grzybów (tabela 1). Larwy rębacza najczęściej były zasiedlone przez *O. piceae*, zaś chrząszcze przez *O. piceae*, *O. minus* oraz *G. piceiperda* (IV).

Tabela 1. Grzyby z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* związane z badanymi gatunkami kózkowatych i ryjkowcowatych. Grzyby pospolicie występujące w powiązaniu z danym gatunkiem owada wytluszczono.

Gatunek owada	Roślina żywicielska	Grzyb towarzyszący
<i>A. aedilis</i>	<i>P. sylvestris</i>	<i>Leptographium procerum</i> , <i>Ophiostoma minus</i> , <i>O. piceae</i>
<i>M. galloprovincialis</i>	<i>P. sylvestris</i>	<i>Graphilbum cf. rectangulosporium</i> (w pracy jako <i>O. cf. rectangulosporium</i>), <i>Leptographium procerum</i> , <i>Ophiostoma minus</i> , <i>O. piceae</i> , <i>O. piliferum</i> , <i>Sporothrix sp.</i>
<i>R. inquisitor</i>	<i>P. sylvestris</i> <i>P. abies</i>	<i>Graphilbum cf. rectangulosporium</i> , <i>Leptographium procerum</i> , <i>Ophiostoma minus</i> , <i>O. piceae</i> <i>Grosmannia penicillata</i> , <i>G. piceiperda</i> , <i>Leptographium lundbergii</i> , <i>Ophiostoma piceae</i> , <i>O. tetropii</i>
<i>H. abietis</i>	<i>P. sylvestris</i>	<i>Graphilbum fragrans</i> (w pracy jako <i>Pesotum fragrans</i>), <i>Grosmannia radiaticola</i> , <i>Leptographium lundbergii</i> , <i>L. procerum</i> , <i>L. truncatum</i> , <i>Ophiostoma cf. abietinum</i> , <i>O. floccosum</i> , <i>O. minus</i> , <i>O. pallidulum</i> , <i>O. piceae</i> , <i>O. piliferum</i> , <i>O. quercus</i> , <i>O. stenoceras</i> , <i>Ophiostoma sp.</i> , <i>Sporothrix inflata</i> , <i>S. variecibatus</i>
<i>P. castaneus</i>	<i>P. sylvestris</i>	<i>Leptographium lundbergii</i> , <i>L. procerum</i> , <i>L. truncatum</i> , <i>Leptographium sp.</i> , <i>Ophiostoma floccosum</i> , <i>O. minus</i> , <i>O. pallidulum</i> , <i>O. piliferum</i> , <i>O. quercus</i> , <i>O. saponiodorum</i> , <i>Sporothrix inflata</i>
<i>P. piniphilus</i>	<i>P. sylvestris</i>	<i>Graphilbum cf. rectangulosporium</i> , <i>Leptographium lundbergii</i> , <i>L. procerum</i> , <i>Ophiostoma cf. canum</i> , <i>O. floccosum</i> , <i>O. minus</i> , <i>O. piceae</i> , <i>O. piliferum</i> , <i>O. quercus</i> , <i>O. saponiodorum</i> , <i>Sporothrix inflata</i>
<i>P. pini</i>	<i>P. sylvestris</i>	<i>Graphilbum cf. rectangulosporium</i> , <i>Leptographium lundbergii</i> , <i>L. procerum</i> , <i>L. truncatum</i> , <i>Ophiostoma floccosum</i> , <i>O. minus</i> , <i>O. piceae</i> , <i>O. piliferum</i> , <i>O. quercus</i> , <i>O. saponiodorum</i> , <i>Sporothrix inflata</i>
<i>M. sutor</i>	<i>P. abies</i>	<i>Grosmannia penicillata</i> , <i>G. piceiperda</i> , <i>Ophiostoma piceae</i> , <i>Ophiostoma sp. 2</i>
<i>Tetropium spp.</i>	<i>P. abies</i>	<i>Grosmannia cucullata</i> , <i>G. penicillata</i> , <i>G. piceiperda</i> , <i>Leptographium procerum</i> , <i>Leptographium sp.</i> , <i>Ophiostoma minus</i> , <i>O. piceae</i> , <i>O. tetropii</i> , <i>Graphilbum sp.</i> (w pracy jako <i>Ophiostoma sp.</i>)

W trakcie badań wykryto 67 nowych powiązań pomiędzy owadami i grzybami nieznanymi wcześniej nauce (tabela 2).

Tabela 2. Grzyby stwierdzone po raz pierwszy w powiązaniu z danym gatunkiem owada.

<i>H. abietis</i>	<i>Graphilbum fragrans</i> , <i>Grosmannia radiaticola</i> , <i>Leptographium lundbergii</i> L. <i>truncatum</i> , <i>Ophiostoma</i> cf. <i>abietinum</i> , <i>O. floccosum</i> , <i>O. minus</i> , <i>O. pallidulum</i> , <i>O. piceae</i> , <i>O. piliferum</i> , <i>O. quercus</i> , <i>Ophiostoma</i> sp., <i>Sporothrix inflata</i> , <i>S. variecibatus</i>
<i>P. castaneus</i>	<i>Leptographium lundbergii</i> L. <i>procerum</i> , L. <i>truncatum</i> , <i>Leptographium</i> sp., <i>Ophiostoma floccosum</i> , <i>O. pallidulum</i> , <i>O. piliferum</i> , <i>O. quercus</i> , <i>O. saponiodorum</i> , <i>Sporothrix inflata</i>
<i>P. pini</i>	<i>Graphilbum</i> cf. <i>rectangulosporium</i> , <i>Leptographium truncatum</i> . <i>Ophiostoma</i> cf. <i>canum</i> , <i>O. floccosum</i> , <i>O. piceae</i> , <i>O. piliferum</i> , <i>O. quercus</i> , <i>O. saponiodorum</i> , <i>Sporothrix inflata</i>
<i>P. piniphilus</i>	<i>Graphilbum</i> cf. <i>rectangulosporium</i> , <i>Leptographium lundbergii</i> , L. <i>procerum</i> , <i>Ophiostoma</i> cf. <i>canum</i> , <i>O. floccosum</i> , <i>O. minus</i> , <i>O. piceae</i> , <i>O. piliferum</i> , <i>O. quercus</i> , <i>O. saponiodorum</i> , <i>Sporothrix inflata</i>
<i>M. galloprovincialis</i>	<i>Leptographium procerum</i> , <i>Ophiostoma minus</i> , <i>O. piceae</i> , <i>O. piliferum</i> , <i>Sporothrix</i> sp.
<i>A. aedilis</i>	<i>Leptographium procerum</i> , <i>Ophiostoma minus</i> , <i>O. piceae</i>
<i>M. sutor</i>	<i>Grosmannia piceiperda</i> , <i>Ophiostoma piceae</i> , <i>Ophiostoma</i> sp. 2
<i>R. inquisitor</i>	<i>Graphilbum</i> cf. <i>rectangulosporium</i> , <i>Grosmannia piceiperda</i> , <i>Leptographium procerum</i> , L. <i>lundbergii</i> , <i>Ophiostoma minus</i> , <i>O. piceae</i> , <i>O. tetropii</i>
<i>Tetropium</i> spp.	<i>Grosmannia cucullata</i> , <i>G. piceiperda</i> , <i>Leptographium procerum</i> , <i>Graphilbum</i> sp., <i>Leptographium</i> sp.

Wpływ czynników środowiskowych na zróżnicowanie gatunkowe grzybów towarzyszących owadom

- lokalizacja geograficzna,

Porównując zespoły grzybów wyizolowane z chrząszczy szeliniaka sosnowca pozyskanych z 21 powierzchni badawczych stwierdzono istotne różnice w składzie gatunkowym grzybów należących do *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* Największym zróżnicowaniem i bogactwem gatunkowym charakteryzowały się zespoły grzybów wyizolowane z szeliniaków pozyskanych w Jarosławiu, Dulowej i Złotym Potoku, zaś najniższym zespoły grzybów towarzyszące szeliniakowi w Wierzchosławicach, Strzelcach Opolskich i Biłgoraju (VI). Podobne zależności wykryto dla *Tetropium* spp. (V). W przypadku izolacji grzybów z chrząszczy okazało się, że *O. piceae* była jedynym gatunkiem występującym na wszystkich badanych powierzchniach i dominowała wśród izolatów uzyskanych z Kamiennicy i Krynicy. Z kolei, *G. piceiperda* była gatunkiem najczęściej izolowanym z chrząszczy zebranych w Zabierzowie i Stanisławicach, a *O. minus* i *L. procerum* były stwierdzane jedynie w Stanisławicach. Takie gatunki jak *G. cucullata* i *G. penicillata* były izolowane często, jedynie z chrząszczy pozyskanych w Krynicy. Częstotliwość występowania grzybów w żerowiskach ściąg także różniła się istotnie pomiędzy badanymi powierzchniami, przy czym jedynie *O. tetropii* zasiedlała żerowiska na wszystkich badanych powierzchniach (V).

- skład gatunkowy drzewostanu.

Ściagi występujące w drzewostanach sosnowych z domieszką świerka były często związane z *L. procerum* i *O. minus*. Z kolei, w drzewostanach świerkowych owady te były skutecznymi wektorami *G. piceiperda*, *G. cucullata* oraz *O. piceae* (V). Podobne zależności wykryto dla rębacza pstrego. Otóż takie grzyby jak *O. minus*, *O. piceae*, *L. procerum* i *Gra.* cf. *rectangulosporium* były stwierdzone na larwach i chrząszczach zebranych w drzewostanach sosnowych, zaś *G. penicillata*, *G. piceiperda*,

O. piceae, *O. tetropii* i *L. lundbergii* towarzyszyły rębaczowi żyjącemu w drzewostanach świerkowych (IV).

Patogeniczność grzybów towarzyszących owadom z rodziny kózkowate

- **dwuletnie sadzonki świerka,**

Dwuletnie świerki rosnące w kontenerach z podłożem torfowo-perlitowym były inokulowane dwutygodniową grzybnią wyrosłą na 2-procentowej pożywce MEA. Kontrolę stanowiło 15 sadzonek inokulowanych sterylną pożywką. Badano dwanaście izolatów reprezentujących sześć gatunków grzybów związanych z *Tetropium* spp. (po dwa izolaty na każdy gatunek grzyba). Były to: *Grosmannia piceiperda*, *G. penicillata*, *Ophiostoma minus*, *O. piceae*, *O. tetropii* i *Graphilbum* sp. Dodatkowo, dwa izolaty grzyba *Ceratocystis polonica* – znanego patogenu świerka, zostały użyte jako kontrola pozytywna.

Wśród badanych grzybów jedynie izolaty *C. polonica* oraz *G. piceiperda* spowodowały zamarcie 2-letnich sadzonek. Izolaty należące to *C. polonica* spowodowały zamarcie ogółem 60% sadzonek, zaś *G. piceiperda* był przyczyną obumarcia ponad 20% sadzonek. Grzyby te wytworzyły na sadzonkach wyraźnie dłuższe nekrozy niż inne badane gatunki. Wszystkie testowane grzyby, za wyjątkiem *Graphilbum* sp. i jednego izolatu *O. tetropii* indukowały na strzałkach sadzonek znacznie dłuższe nekrozy niż te powstałe na sadzonkach kontrolnych. Wśród innych gatunków grzybów, *G. penicillata*, *O. piceae* i jeden izolat grzyba *O. tetropii* generowały na strzałkach pędu wyraźnie większe nekrozy niż drugi izolat grzyba *O. tetropii*, *O. minus* i *Graphilbum* sp. Wszystkie gatunki grzybów, z wyjątkiem *Graphilbum* sp. spowodowały siniznę drewna bielastego u inokulowanych sadzonek. Wśród nich, najgłębsze przebarwienia bielu spowodował *C. polonica*, *G. piceiperda* oraz jeden izolat grzyba *G. penicillata* (V).

- **40-letnie świerki,**

W doświadczeniu oszacowano patogeniczność trzech gatunków grzybów związanych z *Tetropium* spp.: *G. piceiperda*, *G. penicillata* i *O. tetropii*. W eksperymencie użyto tych samych izolatów (po jednym izolacie z każdego gatunku), które wykorzystano w inokulacji dwuletnich sadzonek świerkowych. Krążki grzybni, umieszczano w otworach wywierconych świdrem przyrostowym i sięgających około 1 cm w głąb drewna bielastego. W przypadku drzew kontrolnych w wywierconych otworach umieszczano krążki sterylnej pożywki MEA. Każdym izolatem inokulowano dwa drzewa (jedno przy gęstości inokulacyjnej 400 punktów infekcyjnych na 1m² oraz jedno przy gęstości inokulacyjnej 800 punktów infekcyjnych na 1m²).

Po 23 tygodniach od inokulacji, dwa drzewa sztucznie zakażone grzybem *G. piceiperda* wykazywały objawy zamierania. Korony tych drzew charakteryzowały się silnym przerzedzeniem, pędy i igły były silnie skrócone, igły zaś były przebarwione na kolor żółty. Drzewa sztucznie

infekowane grzybami *G. penicillata* i *O. tetropii* oraz drzewa kontrolne nie wykazywały żadnych objawów chorobowych w koronie.

Inokulacja drzew grzybem *G. piceiperda*, *G. penicillata* oraz *O. tetropii* spowodowała pojawienie się nekroz łyka i drewna bielastego wokół punktów infekcyjnych. Nekrozy te miały kształt soczewkowaty i przebiegały wzdłuż włókien. Rozmiar nekroz powstałych na powierzchni drewna bielastego świerków, w sposób istotny zależał od gatunku grzyba. Nekrozy na drzewach inokulowanych grzybem *O. tetropii* oraz pożywką MEA były stosunkowo niewielkie, podczas gdy nekrozy wywoływane przez *G. piceiperda* i *G. penicillata* były wyraźnie większe. Rozmiar tych nekroz nie zależał jednak od gęstości inokulacyjnej. Dodatkowo na drzewach sztucznie zakażonych *G. piceiperda* i *G. penicillata* (przy gęstości 800/m²), nekrozy te łączyły się także w poprzek włókien, co przyczyniło się do obumarcia całego łyka wewnątrz pasa inokulacyjnego. W przypadku *O. tetropii* oraz drzew kontrolnych zanotowano zamarcie o wiele mniejszych obszarów łyka.

Na wszystkich drzewach obserwowano suche strefy, które były zlokalizowane w drewnie bielastym pod punktami infekcyjnymi. Wielkość suchej strefy w sposób istotny zależała od gatunku grzyba. Udział suchych stref powodowanych przez *G. piceiperda*, przy gęstości inokulacyjnej wynoszącej 800 punktów/m², był wyraźnie większy niż udział suchych stref powstałych na drzewach inokulowanych innymi grzybami i drzewach kontrolnych. Jednak, przy tej gęstości inokulacyjnej także wielkość suchych stref powodowanych przez *O. tetropii* była stosunkowo znaczna. Przy gęstości inokulacyjnej wynoszącej 400 punktów/m² grzyb ten generował nawet więcej suchych stref w drewnie bielastym świerków niż *G. piceiperda* (III).

- **55-letnie sosny.**

Badano patogeniczność wobec sosny zwyczajnej trzech gatunków grzybów (*Ophiostoma minus*, *O. piceae s. l.* i *Leptographium procerum*) związanych z żerdzianką sosnowką. Sosny były inokulowane dwutygodniową grzybnią wyrosłą na 2-procentowej pożywce MEA. Dla celów kontrolnych drzewa inokulowano sterylną 2-procentową pożywką MEA. Każdym izolatem inokulowano dwa drzewa (jedno przy gęstości inokulacyjnej 400 punktów/1m² oraz jedno przy gęstości inokulacyjnej 800 punktów/1m²).

Po zakończeniu doświadczenia żadne sztucznie zakażone grzybami drzewo nie wykazało widocznych objawów zamierania. Wszystkie testowane gatunki grzybów spowodowały wytworzenie się nekroz łyka i drewna bielastego zlokalizowanych wokół punktów infekcyjnych. Rozmiar tych nekroz w istotny sposób zależał od gatunku grzyba. Nekrozy wytworzone na drzewach kontrolnych oraz na drzewach inokulowanych grzybem *O. piceae s. l.* były relatywnie małe, podczas gdy *O. minus* i *L. procerum* generowały wyraźnie większe nekrozy. Średnia długość i szerokość nekroz indukowanych przez *O. minus* były istotnie większe niż wymiary nekroz powstałych na drzewach kontrolnych i drzewach inokulowanych innymi gatunkami grzybów. Zarówno *O. minus*, jak i *L.*

procerum generowały krótsze nekrozy przy 400 punktach/m² niż przy 800 punktach/m², jednak różnice te nie były istotne statystycznie.

Ilość obumarłego łyka w obrębie pasa inokulacyjnego zwiększała się wraz ze wzrostem gęstości inokulacyjnej. Jednak niezależnie od gęstości inokulacyjnej, *O. minus* spowodował obumarcie największej ilości łyka. Na wszystkich drzewach obserwowano suche strefy. Udział tych suchych stref zwiększał się wraz ze wzrostem gęstości inokulacyjnej. Wielkość suchych stref powodowanych przez *O. minus* była wyraźnie większa od tych powstałych na innych drzewach (II).

WNIOSKI

1. Owady z rodziny Cerambycidae i Curculionidae rozwijające się na sośnie zwyczajnej i świerku pospolitym są skutecznymi wektorami grzybów z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* Owadom tym towarzyszą dosyć zróżnicowane gatunkowo zespoły grzybów a częstość występowania poszczególnych gatunków grzybów zależy głównie od gatunku wektora, gatunku rośliny żywicielskiej oraz lokalizacji geograficznej.
2. Podstawowym czynnikiem determinującym skład gatunkowy grzybów towarzyszących kózkowatym i ryjkowcowatym jest gatunek rośliny żywicielskiej. Stałymi towarzyszami ryjkowcowatych i kózkowatych na sośnie zwyczajnej są *Leptographium procerum*, *Ophiostoma minus*, *O. piceae* i *O. quercus*. Natomiast, w drzewostanach świerkowych kózkowatym regularnie towarzyszą: *Grosmannia piceiperda*, *O. piceae*, *O. tetropii* i *G. cucullata*.
3. Spektrum gatunkowe grzybów związanych z owadami rozwijającymi się na tej samej roślinie żywicielskiej (sosna/świerk) jest stosunkowo podobne, choć zależy ono także w dużym stopniu od miejsca żerowania owadów. Dla przykładu ryjkowcowate występujące na powierzchniach odnowieniowych (*H. abietis* i *P. castaneus*) są skutecznymi wektorami grzybów z rodzaju *Leptographium*, a zwłaszcza grzyba *L. procerum*. Z kolei *P. piniphilus* i *P. pini*, które zasiedlają starsze drzewa są skutecznymi wektorami *O. minus* i *O. quercus*.
4. Badane gatunki owadów są związane z mało specyficznymi gatunkami grzybów. Wyizolowane z badanych owadów zespoły grzybów, są w dużej mierze zbliżone, pod względem składu gatunkowego do zespołów grzybów towarzyszących kornikom występującym na sośnie i świerku. Jednak niektóre gatunki grzybów, takie jak *Graphilbum* sp., *Ophiostoma* sp. 2, *S. inflata* i *S. variecibatus* wydają się być specyficznymi towarzyszami tej grupy owadów.
5. Stosunkowo najsilniejsze i najbardziej trwałe związki z grzybami z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* wykazują następujące gatunki owadów: *H. abietis*, *P. piniphilus*, *P. pini* i *Tetropium* spp. Natomiast *M. galloprovincialis*, *M. sutor*, *P. castaneus* i *A. eadilis* są dosyć luźno powiązane z tą grupą grzybów.
6. Skład gatunkowy oraz częstotliwość występowania grzybów towarzyszących owadom troficznie preferującym świerka pospolitego ale występującym także na sośnie zwyczajnej (*Tetropium* spp. i

Rhagium spp.) jest zależne od składu gatunkowego drzewostanów. W drzewostanach sosnowych z domieszką świerka mykobiota towarzysząca tym owadom jest dodatkowo wzbogacona o gatunki grzybów występujących na sośnie (*Leptographium procerum*, *O. minus*), natomiast w drzewostanach świerkowych owady te przenoszą wyłącznie grzyby związane ze świerkiem pospolitym (*O. piceae*, *O. tetropii*, *G. piceiperda* czy *G. cucullata*).

7. Grzyb *Ophiostoma piceae*, który do tej pory dosyć licznie był stwierdzany na drzewach iglastych, w drzewostanach sosnowych jest gatunkiem stosunkowo rzadkim. Z przeprowadzonych badań wynika, że w Polsce jest on znacznie silniej powiązany ze świerkiem pospolitym. Z kolei *O. quercus*, którego uważa się za gatunek preferujący drzewa liściaste ma o wiele szerszy zakres gospodarzy i bardzo często kolonizuje także sosnę zwyczajną.
 8. Szeliniak sosnowiec może skutecznie wprowadzać propagule grzybów z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* do sadzonek sosny podczas swojego żeru uzupełniającego. Jednak ze względu na stosunkowo niewielką patogeniczność grzyba *L. procerum* – głównego grzybowego towarzysza tego owada, grzyby te prawdopodobnie w niewielkim stopniu przyspieszają zamieranie uszkodzonych sadzonek.
 9. Doświadczenie inokulacyjne przeprowadzone na 55-letnich sosnach wykazało, że *O. minus* jest gatunkiem silnie wirulentnym wobec sosny zwyczajnej. Wśród kózkowatych gatunek ten jest najczęściej związany z *M. galloprovincialis*. Jednak chrząszcze tej żerdzianki przenoszą propagule tego grzyba stosunkowo rzadko i dlatego prawdopodobnie grzyb ten nie odgrywa większej roli w osłabianiu mechanizmów odpornościowych drzew. Natomiast w drzewostanach sosnowych *O. minus* często towarzyszy *P. piniphilus* i *P. pini*, co prawdopodobnie może przyczynić się do szybszego zamierania drzew po ich masowym ataku.
 10. Doświadczenia inokulacyjne przeprowadzone na 2-letnich i 40-letnich świerkach wykazały, że wśród grzybów przenoszonych przez owady z rodzaju *Tetropium*, *G. piceiperda* charakteryzuje się stosunkowo wysokim stopniem patogeniczności wobec świerka pospolitego. Może to sugerować, że grzyb ten odgrywa ważną rolę w przyspieszaniu zamierania świerka po ataku owadów. Natomiast, główny towarzysz tych owadów – *O. tetropii* jest słabym patogenem świerka i raczej nie odgrywa on dużej roli w obniżaniu vitalności drzew. Grzyb ten w przeciwieństwie do *G. piceiperda*, wykazuje większe zdolności do kolonizowania drewna bielastego niż łyka.
 11. Wyniki testu patogeniczności przeprowadzonego na 2-letnich sadzonkach świerka dobrze korespondowały z wynikami doświadczenia infekcyjnego wykonanego na starszych drzewach. Dlatego wydaję, że metoda szacowania patogeniczności grzybów siniznowych za pomocą sadzonek w pełni odzwierciedla ich stopień patogeniczności.
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

Moje zainteresowania naukowe obejmują następujące zagadnienia:

- **WYKORZYSTANIE KULTUR TKANKOWYCH W FITOPATOLOGII LEŚNEJ**

W tym zakresie do głównych osiągnięć zaliczam przede wszystkim badania nad zastosowaniem kultur tkankowych do badań nad interakcjami pomiędzy grzybami o różnych właściwościach biotroficznymi a rośliną żywicielską. Zastosowana metoda dostarczyła wielu cennych informacji na temat wzrostu *in vitro* różnych gatunków grzybów w obecności kalusa jodły pospolitej i świerka pospolitego. Uzyskane w testach informacje były podstawą do oszacowania potencjalnej patogeniczności niektórych grzybów. Wzajemne relacje były opisywane poprzez porównanie wzrostu grzybnii w kierunku do kalusa i kierunku przeciwnym, zmian cech fenotypowych kalusa oraz wydzielania przez kalus specyficznych białek. Wyniki tych badań zostały przedstawione w kilku publikacjach a większość prac z tego zakresu wynika z bliskiej współpracy z dr inż. Katarzyną Nawrot-Chorabik z Katedry Fitopatologii Leśnej Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, która od wielu lat prowadzi badania nad kulturami dualnymi. W pierwszej pracy¹⁵ z tego zakresu opracowano sposoby dezynfekcji ekplantatów jodłowych. W kolejnej pracy¹⁶ badano interakcje pomiędzy grzybami o różnym stopniu patogeniczności a kalusem jodły pospolitej. Dodatkowo oszacowano wpływ genotypu jodły na wzrost grzybów w kulturach dualnych. Badania wykazały m. in., że genotyp kalusa wpływał na zróżnicowanie wzrostu badanych gatunków grzybów. W przeprowadzonym eksperymencie kalus stymulował wzrost grzybnii silnie patogenicznego *Heterobasidion parviporum* oraz mniej patogenicznych grzybów (*Ophiostoma piceae* i *Pesotum* sp). W trzeciej publikacji z tego zakresu¹⁷ badano wzrost grzybnii izolatów *Grosmannia piceiperda* i *O. tetropii* w obecności kalusa świerka pospolitego. Użyte w doświadczeniu izolaty grzybów były wcześniej wykorzystane w doświadczeniu infekcyjnym *in vivo*. Dodatkowo w eksperymencie tym badano także zawartość białek w kalusie świerkowym w reakcji na obecność grzybnii tych dwóch gatunków grzybów. Wzrost grzybnii jednego izolatu *G. piceiperda* był stymulowany przez kalus, natomiast obecność kalusa nie wpływała na wzrost izolatów *O. tetropii* oraz jednego izolatu *G. piceiperda*. Pod wpływem obecności *G. piceiperda*, w kalusie zanotowano znacznie wyższą zawartość rozpuszczalnych białek. Natomiast zawartość białek w kalusie w obecności grzyba *O. tetropii* była podobna jak w kombinacji kontrolnej. Wyniki badań *in vitro* potwierdziły wysoką patogeniczność izolatów *G. piceiperda* oraz niską patogeniczność izolatów *O. tetropii* wobec świerka pospolitego ustaloną metodą *in vivo*. Badania te wykazały także, że właściwości patogeniczne izolatów można *in vitro* wiązać z zawartością rozpuszczalnych białek w kalusie rośliny gospodarza. Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowana metoda badań patogeniczności grzybów na poziomie embrionalnym w kulturach dualnych *in vitro* może być bardzo pomocna do oszacowania właściwości fitopatogenicznych grzybów.

¹⁵Nawrot-Chorabik K., Jankowiak R. 1999. Wstępne badania nad dezynfekcją ekplantantów jodły olbrzymiej (*Abies garndis* Lindl.) wykorzystywanych w kulturach *in vitro* do mikrorozmnażania jodły. Zeszyty Naukowe A.R. w Krakowie, Leśnictwo 28: 39-50.

¹⁶Nawrot-Chorabik K., Jankowiak R. 2010. Interakcje pomiędzy kalusem trzech genotypów *Abies alba* a grzybami o różnym statusie ekologicznym. Leśn. Prac. Bad. 71 (4): 381-389.

¹⁷Nawrot-Chorabik K., Jankowiak R., Grad B. 2011. Growth of two blue-stain fungi associated with *Tetropium* beetles in the presence of callus of *Picea abies*. Dendrobiology 66: 41-47.

- **ZWIĄZKI POMIĘDZY OWADAMI ŻERUJĄCYMI NA DRZEWACH Z RODZINY PINACEAE A GRZYBAMI, ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM GRZYBÓW WORKOWYCH NALEŻĄCYCH DO RZĘDU OPHIOSTOMATALES, MICROASCALES ORAZ HYPOCREALES**

Spośród wielu opublikowanych prac z tego zakresu czołową pozycję zajmuje praca opublikowana wspólnie z dr. Miroslavem Kolaříkiem (Charles University in Prague, Department of Botany; Institute of Microbiology ASCR, Praha, Czech Republic) w czasopiśmie *Microbial Ecology*¹⁸. Praca ta dotyczy grzybów z rodzaju *Geosmithia* (Ascomycota: Hypocreales) występujących na drzewach z rodziny Pinaceae w Europie Środkowej i Północnej. Do tej pory uważano, że grzyby te współżyją przede wszystkim z kornikami rozwijającymi się na roślinach okrytozalążkowych (Angiospermae). Praca ta po raz pierwszy na świecie dostarczyła dowodów, że grzyby reprezentujące rodzaj *Geosmithia* towarzyszą pospolicie owadom żyjącym na roślinach z rodziny Pinaceae. Wyniki analizy obszernego materiału badawczego (85 próbek reprezentujących 23 gatunki owadów podkorowych z terenu Czech, Polski, Słowacji, Litwy, Łotwy i Finlandii) pozwoliły uzyskać nowe dla nauki informacje na temat zróżnicowania gatunkowego, wektorów oraz roślin żywicielskich tych grzybów. W badaniach tych stwierdzono, że spektrum gatunkowe *Geosmithia* spp. jest w małym stopniu uwarunkowane lokalizacją geograficzną oraz gatunkiem wektora, natomiast jest istotnie zależne od gatunku rośliny żywicielskiej. *Geosmithia* spp. związane z *Pinus sylvestris* były zasadniczo różne od gatunków z tego rodzaju wykrytych na *Abies alba*, *Larix decidua* czy *Picea abies*. W badaniach zidentyfikowano 12 gatunków z rodzaju *Geosmithia*. Wśród nich cztery gatunki były znane z wcześniejszych prac, osiem gatunków zostało wykrytych po raz pierwszy a dziesięć gatunków stwierdzono wyłącznie na drzewach z rodziny Pinaceae. Grzyby te tworzyły cztery niezależne linie filogenetyczne. Razem ze współautorem pracy uważamy, że duża specyficzność i obfitość grzybów z rodzaju *Geosmithia* występująca w powiązaniu z kornikami odżywiającymi się roślinami z rodziny Pinaceae sugeruje długi ewolucyjnie i stabilny związek między tymi grupami organizmów. Grzyby z rodzaju *Geosmithia* jako stali partnerzy grzybowi korników zostały udokumentowane także w moich wcześniejszych opracowaniach^{19,20}. W pierwszej z nich badałem grzyby związane z *Pityogenes bidentatus* w wybranych uprawach sosnowych w Polsce, zaś w drugiej identyfikowałem grzyby związane z *Cryphalus piceae* na *A. alba*. Zarówno *P. bidentatus* jak i *C. piceae* współżyły z kilkoma nieznanymi gatunkami z rodzaju *Geosmithia*. Grzyby te szczególnie licznie występowały w powiązaniu z *P. bidentatus*. Przeprowadzony test na patogeniczność wykazał, że grzyby towarzyszące *C. piceae* były słabo (*Pesotum* sp.) lub nie patogeniczne (*Geosmithia* sp., *O. piceae*) wobec sadzonek jodły pospolitej, co sugeruje, że nie są to groźne patogeny jodły. Uzyskane w pracach wyniki

¹⁸Kolařík M., Jankowiak R. 2013. Vector affinity and diversity of *Geosmithia* fungi living on subcortical insects inhabiting Pinaceae species in Central and Northeastern Europe. *Microbial Ecology* DOI 10.1007/s00248-013-0228-x

¹⁹Jankowiak R., Rossa R. 2008. Associations between *Pityogenes bidentatus* and fungi in young managed Scots pine stands in Poland. *Forest Pathol.* 38:169-177.

²⁰Jankowiak R., Kolařík M. 2010. Fungi associated with the fir bark beetle *Cryphalus piceae* in Poland. *Forest Pathol.* 40:133-144.

pozwołyły wysunąć hipotezę, że grzyby z rodzaju *Geosmithia* dzięki ewolucyjnej adaptacji do zasiedlania przesuszonego drewna i życia w wysokiej temperaturze trwale współżyją z kornikami rozwijającymi się w cienkich pędach. W przeciwieństwie do korników rozwijających się pod grubą korą, owady te nie są związane z grzybami ofiostomatoidalnymi, które zasiedlają „świeże” i wilgotne drewno bielaste. Hipoteza ta zostanie dodatkowo zweryfikowana w kolejnej publikacji, która jest obecnie przygotowywana do druku²¹. Natomiast nowo odkryte dla nauki gatunki z rodzaju *Geosmithia* zostaną opisane w monografii rodzaju *Geosmithia* (autorstwa M. Kolaříka). Dla gatunków wykrytych w Polsce będę także współautorem opisu tych taksonów.

Inne prace z tego zakresu były skoncentrowane nad grzybami ofiostomatoidalnymi związanymi z kornikami żyjącymi na drzewach z rodziny Pinaceae. Dla najczęstszych partnerów grzybowych korników starałem się także ustalić stopień patogeniczności, co w dużym stopniu umożliwiło mi określić rolę tych grzybów w zamieraniu drzew po ataku owadów. W kilku przypadkach ustaliłem także wstępne fazy sukcesji grzybów w drewnie bielastym po ataku korników, dzięki czemu wyróżniono tzw. „pierwszych kolonizatorów” drewna. Wydaję się, że gatunki te ogrywiają bardzo ważną rolę w przełamaniu mechanizmów odpornościowych drzew po ataku korników. Większość badań z tego zakresu została zrealizowana w południowej, zachodniej oraz północno-wschodniej Polsce. Prace te prowadziłem samodzielnie lub we współpracy z dr hab. Jackem Hilszczańskim (Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Ochrony Lasu), dr. Miroslavem Kolaříkiem, dr. Wilhelmem de Beerem (Forestry and Agricultural Biotechnology Institute (FABI), University of Pretoria), dr inż. Robertem Rossą, dr inż. Piotrem Bilańskim oraz dr inż. Magdaleną Kacprzyk (Katedra Ochrony Lasu, Entomologii i Klimatologii Leśnej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie) i zostały one opublikowane m.in. w takich czasopismach jak *Annals of Forest Science*, *Journal of Applied Entomology*, *Forest Pathology* czy *Canadian Journal of Forest Research*. Wśród zidentyfikowanych grzybów towarzyszących kornikom, większość gatunków została stwierdzona po raz pierwszy w Polsce. Część badań była wykonana w ramach projektów finansowanych przez KBN, Ministerstwo Nauki i Informatyzacji oraz Rektora UR w Krakowie (Stypendia Rektorskie).

Do najważniejszych osiągnięć z tego zakresu zaliczam:

❖ poznanie grzybów towarzyszących kornikom rozwijającym się na świerku oraz opisanie schematu sukcesji grzybów w tkankach świerka po ataku *Ips typographus*. Przeprowadzone badania wykazały, że *I. typographus* w południowej i północno-wschodniej Polsce jest wektorem grzybów z rodzajów *Ophiostoma*, *Grosmannia*, *Ceratocystiopsis*, *Ceratocystis* jak również ich stadiów konidialnych, takich jak *Pesotum*, *Hyalorhinocladiella*, *Sporothrix* czy *Leptographium*. Do grzybów najczęściej towarzyszących *I. typographus* w naszym kraju należy zaliczyć następujące gatunki: *Ceratocystis polonica*, *Grosmannia penicillata*, *G. piceiperda*, *Ophiostoma ainoae*, *O. bicolor* i *O. piceae*. Dodatkowo w Polsce, kornikowi temu stosunkowo pospolicie towarzyszy grzyb podstawkowy

²¹Jankowiak R., Kolařík M., Bilański P. 2013. Association of *Geosmithia* fungi with pine- and spruce- branch infesting bark beetles in Poland. *Forest Ecol. Manag.* (w przygotowaniu).

- *Gloeocystidium ipidophilum*. Przeprowadzone przeze mnie badania wykazały, że rolę pierwszego kolonizatora drewna po ataku *I. typographus* odgrywa *C. polonica*. Dzięki swojej wysokiej agresywności, grzyb ten bardzo szybko zasiedla drewno bielaste, co w znaczny sposób utrudnia transport wody i może doprowadzać do zamarcia drzew. Później, zamierające i martwe już tkanki świerków opanowywane są przez inne gatunki grzybów, takie jak *G. penicillata*, *G. cucullata*, *O. piceae*, *O. ainoae* czy *Ceratocystiopsis minuta* cechujące się znacznie mniejszą patogennością. Oprócz *I. typographus* prowadzone przeze mnie badania udokumentowały grzybowych towarzyszy *Dryocoetes autographus*, *Hylurgops palliatus*, *Ips amitinus*, *Pityogenes chalcographus*, *Polygraphus poligraphus* oraz po raz pierwszy na świecie *Pityophthorus pityographus*. Skład gatunkowy i częstość występowania grzybów towarzyszących tym sześciu gatunkom korników były stosunkowo podobne. Za wyjątkiem *P. pityographus*, wszystkie gatunki korników były często związane z grzybami z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* Najbardziej pospolitymi grzybami towarzyszącymi tym kornikom były: *O. ainoae*, *O. bicolor*, *O. piceae s. l.* i *G. piceiperda*. Część wyników badań opisanych powyżej stała się podstawą mojej pracy doktorskiej wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Tadeusza Kowalskiego i obronionej w 2003 r. na Wydziale Leśnym Akademii Rolniczej w Krakowie. Praca ta została opublikowana w kilku publikacjach^{22,23,24,25}. Tematyka ta zaowocowała również cyklem późniejszych publikacji^{26,27}, a interakcje pomiędzy grzybami, rośliną żywicielską i *I. typographus* zostały podsumowane w opracowaniu zbiorowym pt. „Kornik drukarz i jego rola w ekosystemach leśnych”²⁸.

❖ zbadanie interakcji pomiędzy kornikami, grzybami i sosną zwyczajną. Celem badań w tym zakresie było: a) określenie składu gatunkowego grzybów towarzyszących zespołom korników zasiedlających różne nisze ekologiczne (strefy żerowania) na sośnie zwyczajnej, b) ustalenie patogenności najczęstszych grzybów związanych z *Tomicus piniperda*, *T. minor* oraz *Ips sexdentatus*, c) opisanie wstępnych faz sukcesji grzybów towarzyszących owadom z rodzaju *Tomicus* na sośnie zwyczajnej. W ramach badań analizowano następujące zespoły korników: odziomek i nabiegi korzeniowe - *Hylastes ater*, *H. opacus*, *Hylurgus ligniperda*; dolne i środkowe części strzał - *Hylurgops palliatus*, *I. sexdentatus*, *T. piniperda*; wierzchołki oraz gałęzie - *T. minor*, *P. bidentatus*, *P. chalcographus*, *Pityophthorus pityographus*. Prace były realizowane na kilkunastu powierzchniach badawczych zlokalizowanych w całej Polsce. Główne wyniki tych prac można streścić następująco:

❖ odziomek i nabiegi korzeniowe,

²²Jankowiak R. 2004. Ophiostomatoid fungi associated with the spruce bark beetle – *Ips typographus* (L.) new for Poland: occurrence and morphology. *Phytopathol. Pol.* 33: 5-21.

²³Jankowiak R. 2004. Fungi associated with the beetles of *Ips typographus* on Norway spruce in Southern Poland. *Acta Mycol.* 39 (1): 105-116.

²⁴Jankowiak R. 2005. Fungi associated with *Ips typographus* on *Picea abies* in Southern Poland and their succession into the phloem and sapwood of beetle-infested trees and logs. *Forest Pathol.* 35: 37-55.

²⁵Jankowiak R. 2006. *Ceratocystis polonica* jako sprawca zamierania świerków. *Sylwan* 6: 27-39.

²⁶Jankowiak R., Hilszczański J. 2005. Ophiostomatoid fungi associated with *Ips typographus* (L.) on *Picea abies* ((L.) H. Karst.) and *Pinus sylvestris* L. in north-eastern Poland. *Acta Soc. Bot. Polon.* 74(4): 345-350.

²⁷Jankowiak R., Kacprzyk M., Młynarczyk M. 2009. Diversity of ophiostomatoid fungi associated with bark beetles colonizing branches of *Picea abies* in southern Poland. *Biologia* 64/6: 1170-1177.

²⁸Jankowiak R. 2013. Grzyby towarzyszące kornikowi drukarzowi i ich rola w zamieraniu świerków. W: Kornik drukarz i jego rola w ekosystemach leśnych (red: Grodzki W.), Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, W-wa, 73-82.

Chrząszcze zasiedlające odziomek i korzenie sosny były ściśle powiązane z grzybami należącymi do *Leptographium s. l.* Analiza sekwencji ITS rDNA oraz fragmentu genu β -tubuliny reprezentatywnych kultur grzybów wykazała, że owady te są powiązane z 10 gatunkami grzybów²⁹. Te 10 gatunków obejmowało 13 nieznanymi wcześniej powiązań pomiędzy grzybami i owadami. Spektrum gatunkowe i częstotliwość występowania grzybów w małym stopniu zależała od gatunku wektora. Najpospolitszymi grzybami towarzyszącymi tej grupie korników były *G. radiaticola*, *L. lundbergii*, *L. procerum* i *L. truncatum*. Wyniki dostarczyły także dowodów na to, że *Hylastes* spp. i *Hg. ligniperda* są bardzo skutecznymi wektorami groźnego patogenu sosen - *Sphaeropsis sapinea*.

❖ dolne i środkowe części strzał,

Na podstawie izolacji grzybów z żerowisk i chrząszczy *T. piniperda* wykazano, że kornikowi temu towarzyszy wiele gatunków grzybów, dosyć różnorodnych pod względem taksonomicznym. W żerowiskach tego owada licznie występowały grzyby ofiostomatoidalne (głównie *O. minus* i *O. piceae*) oraz grzyby z rodzaju *Penicillium*, *Trichoderma* i *Mucor*³⁰. Z kolei wśród izolatów grzybów uzyskanych z chrząszczy dominowały grzyby z rodzaju *Penicillium* oraz *Hormonema dematioides*, zaś grzyby ofiostomatoidalne występowały stosunkowo rzadko³¹. Wyniki te sugerują, że *T. piniperda* należy do grupy korników dosyć luźno związanych z grzybami ofiostomatoidalnymi, a jego najważniejszym grzybowym towarzyszem wydają się być *H. dematioides*. Na przykładzie *T. piniperda* dowiodłem ponadto, że gęstość populacji tego owada istotnie wpływa na skład gatunkowy i ilościowy przenoszonych przez niego grzybów. Okazało się, że chrząszcze *T. piniperda* z populacji charakteryzującej się wysoką liczebnością są związane ze znacznie bardziej zróżnicowanym gatunkowo i ilościowo zespołem grzybów niż chrząszcze należące do populacji o małej liczebności. Różnice te były najbardziej widoczne dla patogenicznego *O. minus*. Dzięki moim badaniom poznano także wstępne fazy sukcesji grzybów na sośnie zwyczajnej po ataku tego owada³². Podczas 15 tygodni obserwacji, tkanki w obrębie żerowisk zasiedlały głównie grzyby ofiostomatoidalne i grzyby z rodzaju *Penicillium*, *Trichoderma* i *Mucor*. Grzyby z rodzaju *Penicillium*, *Trichoderma* i *Mucor* oraz patogeniczny *O. minus* były pierwszymi kolonizatorami łyka i drewna, choć pierwsza wymieniona grupa kolonizatorów zasiedlała w tym okresie jedynie powierzchniowe warstwy tkanek. Później, drewno zasiedlały *O. piceae* i *L. lundbergii*, które „podążały” za *O. minus*. W końcowych stadiach sukcesji, gatunki te były zastępowane przez *L. wingfieldii*, *L. procerum* i *Graphilbum* cf. *rectangulosporium*. Testy na patogeniczność z wykorzystaniem dwuletnich sadzonek sosnowych wykazały, że wśród grzybów przenoszonych przez *T. piniperda*, silnie wirulentne wobec sadzonek

²⁹Jankowiak R., Bilański P. 2012. Ophiostomatoid fungi associated with root-feeding bark beetles in Poland. Forest Pathol. DOI 10.1111/efp.12049

³⁰Jankowiak R. 2006. Fungi associated with *Tomicus piniperda* in Poland and assessing their virulence using Scots pine seedlings. Ann. For. Sci. 63: 801-808.

³¹Jankowiak R., Bilański P. 2007. Fungal flora associated with *Tomicus piniperda* L. in an area close to a timber yard in southern Poland. J. Appl. Entomol. 131: 579-584.

³²Jankowiak R., Kurek M. 2006. The early stages of fungal succession in Scots pine phloem and sapwood infested by the pine shoot beetle – *Tomicus piniperda*. Dendrobiology 56: 27-36.

sosny były *L. wingfieldii* i *O. minus*³³. Takie gatunki jak *O. piliferum*, *O. piceae* i *L. procerum* charakteryzowały się znacznie niższym stopniem patogeniczności.

Kolejnym badanym kornikiem żerującym pod grubą korą sosen był *H. palliatus*. Izolacje grzybów z żerowisk i chrząszczy wykazały, że najważniejszymi grzybowymi towarzyszami tego kornika są grzyby ofiostomatoidalne, które były reprezentowane przez 7 gatunków³⁴. W zespole grzybów towarzyszących *H. palliatus* dominował *L. lundbergii* oraz *Gra. cf. rectangulosporium* (w pracy nazwany jako *Graphium sp.* "W"). *Ophiostoma minus* i *O. piceae s. l.*, które były także stosunkowo licznie stwierdzane w powiązaniu z *H. palliatus*, zostały udokumentowane jako nowi towarzysze grzybowi tego owada. Podobnie jak *H. palliatus*, *I. sexdentatus* był ściśle powiązany z grzybami ofiostomatoidalnymi³⁵, choć z żerowisk i ciała chrząszczy tego owada wyizolowano więcej gatunków grzybów. Najczęściej z *I. sexdentatus* związane były następujące gatunki grzybów: *L. cf. truncatum*, *O. brunneo-ciliatum* i *O. ips*. Takie grzyby jak *Gra. cf. rectangulosporium*, *O. cf. abietinum*, *O. quercus* i *O. floccosum* zdają się być także stałymi partnerami grzybowymi tego kornika w Polsce. Wśród badanych grzybów, *L. cf. truncatum* i *O. minus* były najbardziej wirulentne w stosunku do sosny zwyczajnej i powinny być traktowane jako groźne patogeny sosen.

❖ wierzchołki oraz gałęzie,

Z izolacji grzybów z chrząszczy i żerowisk *T. minor* wynika, że do trwałych i regularnych towarzyszy tego owada należą *O. canum*, *H. dematioides* i *Ambrosiella tingens*³⁶. W drewnie bielastym podczas 12 tygodni obserwacji zanotowano istotne zmiany sukcesyjne, przy czym wzór sukcesji grzybów był zgodny ze schematem znanym dla innych gatunków korników. Grzyb *A. tingens* był pierwszym kolonizatorem drewna i występował najczęściej w jego najgłębszych warstwach. *Ophiostoma canum*, *H. dematioides* oraz inne gatunki grzybów były także często izolowane z drewna bielastego ale występowały licznie jedynie w początkowych fazach sukcesji grzybów, w powierzchniowych warstwach drewna. W późniejszych fazach sukcesji, drewno licznie zasiedlał *O. canum*, który "podążał" za *A. tingens*. W doświadczeniu inokulacyjnym wykazano, że *T. minor* jest wektorem grzybów charakteryzujących się średnim poziomem (*O. canum*) lub brakiem (*A. tingens*) patogeniczności w stosunku do sosny zwyczajnej³⁷. Dodatkowo poznano także skład gatunkowy i częstość występowania grzybów *Ophiostoma s. l.* w pędach sosny zwyczajnej uszkodzonych przez żer uzupełniający *Tomicus spp.*³⁸ Ogółem, z pędów uszkodzonych przez cetyńce wyizolowano siedem gatunków grzybów. Dwa z nich, *Ophiostoma sp. 1* i *Sporothrix sp. 1* prawdopodobnie reprezentują nowe taksony dla nauki. Wszystkie stwierdzone gatunki charakteryzowały się niską częstotliwością

³³Jankowiak R. 2006. Fungi associated with *Tomicus piniperda* in Poland and assessing their virulence using Scots pine seedlings. Ann. For. Sci. 63: 801-808.

³⁴Jankowiak R. 2006. Mycobiota associated with *Hylurgops palliatus* (Gyll.) on *Pinus sylvestris* L. in Poland. Acta Soc. Bot. Polon. 75: 333-338.

³⁵Jankowiak R. 2012. Ophiostomatoid fungi associated with *Ips sexdentatus* on *Pinus sylvestris* in Poland. Dendrobiology 68: 43-54.

³⁶Jankowiak R. 2008. Fungi associated with *Tomicus minor* on *Pinus sylvestris* in Poland and their succession into the sapwood of beetle-infested windblown trees. Can. J. For. Res. 38: 2579-2588.

³⁷Jankowiak R. 2011. Assessing the pathogenicity of four blue-stain fungi associated with *Tomicus minor* using Scots pine seedlings. Phytopathologia 61:9-15.

³⁸Jankowiak R., Kolařík M. 2011. Ophiostomatoid fungi isolated from fallen shoots of Scots pine pruned by *Tomicus* species in Poland. Acta Mycol. 46(2): 201-210.

występowania. Jedynie, *O. minus*, *Ophiostoma* sp. 1 i *Sporothrix* sp. 1 były izolowane z 2% pędów. Pozostałe gatunki grzybów (*L. piriforme*, *O. canum*, *O. floccosum* i *G. cucullata*-like) zasiedlały pędy sosny sporadycznie.

Kornikom rozwijającym się na cienkich gałęziach sosny zwyczajnej (*P. bidenatus*, *P. chalcographus*, *P. pityographus*) towarzyszyło 12 gatunków grzybów ofiostomatoidalnych³⁹. Za wyjątkiem *P. chalcographus*, grzyby te były rzadko izolowane. Grzybem najczęściej towarzyszącym *P. chalcographus* był *O. ainoae*, a 10 pozostałych gatunków było izolowanych z niską częstotliwością. *Pityogenes bidentatus* sporadycznie prznosił sześc, a *P. pityographus* dwa gatunki grzybów ofiostomatoidalnych, co sugeruje mało specyficzne relacje pomiędzy tymi grupami organizmów. W pracy tej opisano cztery nowe związki pomiędzy grzybami a *P. bidentatus*.

- ustalenie składu gatunkowego i częstości występowania grzybów towarzyszących *Ips cembrae* i opisanie schematu sukcesji grzybów na *Larix decidua* po ataku owadów.

Przeprowadzone badania wykazały, że *I. cembrae* w Polsce towarzyszą różne gatunki grzybów, spośród których najważniejszą grupę stanowiły grzyby ofiostomatoidalne⁴⁰. Do stałych partnerów grzybowych tego kornika w Polsce należy zaliczyć: *Ceratocystis laricicola*, *O. brunneo-ciliatum* i *Graphium laricis*. *Ophiostoma ips* został po raz pierwszy udokumentowany w badaniach jako towarzysz grzybowy *I. cembrae*. *Ceratocystis laricicola* był pierwszym kolonizatorem drewna bielastego modrzewia i występował najliczniej w początkowych stadiach rozwoju larwalnego kornika. *Ophiostoma brunneo-ciliatum* i *G. laricis* „podążały” za *C. laricicola* i były kolejnymi kolonizatorami drewna. W późniejszych fazach sukcesji, liko i drewno zaczęły zasiedlać inne gatunki grzybów.

Badania dotyczące związków pomiędzy owadami i grzybami są dalej kontynuowane. Aktualnie przygotowywana jest praca dotycząca grzybów towarzyszących *Scolytus ratzeburgii* na brzozie brodawkowatej, a we współpracy z Wilhelmem De Beer opracowywana jest mykobiota związana z *Dendroctonus micans* oraz *Trypodendron lineatum*. Poza tym, z badaczem tym prowadzone są wspólne prace nad taksonomią grzyba *O. piliferum*, zmiennością wewnątrzgatunkową grzyba *L. procerum* oraz filogenezą i taksonomią gatunków należących do *O. ips* complex, *Pesotum fragrans* complex, *O. stenoceras* – *s. schenckii* complex, *O. brunneociliatum* – *O. clavatum* complex i *O. canum* – *O. piceae* complex.

- **ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE GRZYBÓW SYMBIOTYCZNYCH ORAZ PATOGENÓW ZWIĄZANYCH Z KORZENIAMI DRZEW LEŚNYCH**

Działalność naukową z tego zakresu rozpocząłem jako student Leśnictwa Wydziału Leśnego Akademii Rolniczej w Krakowie realizując pracę magisterską w Katedrze Fitopatologii Leśnej pod kierunkiem prof. dr hab. Stefana Kowalskiego. Badania te dotyczyły mikoryz modrzewia

³⁹Jankowiak R., Kot M. 2011. Ophiostomatoid fungi associated with bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) colonizing branches of *Pinus sylvestris* in southern Poland. Pol. Bot. J. 56(2): 287-293.

⁴⁰Jankowiak R., Rossa R., Miśta K. 2007. Survey of fungal species vectored by *Ips cembrae* to European larch trees in Raciborskie forests (Poland). Czech Mycol. 59(2): 227-23.

europejskiego na wybranych rekultywowanych powierzchniach po pożarze całkowitym lasu w Rudach Raciborskich. Wyniki uzyskane podczas realizacji tej pracy zostały opublikowane⁴¹.

Kolejna publikacja z tego zakresu dotyczyła grzybów zasiedlających pniaki sosny czarnej w zależności od czasu ekspozycji⁴². Badania te wykazały, że po 6 i 18 miesiącach ekspozycji pniaków wyraźną dominację wykazywały dwa gatunki grzybów podstawkowych: *Stereum sanguinolentum* i *Phlebiopsis gigantea*. Po 30 miesiącach ekspozycji występowały bardziej zróżnicowane zespoły grzybów. Wraz z postępującym rozkładem drewna częściej izolowano grzyby należące do Ascomycota. Na pniakach nie zanotowano obecności grzybów z rodzaju *Heterobasidion* – groźnych patogenów sosny, co mogło być spowodowane częstym występowaniem na pniakach grzyba *P. gigantea*, który jest naturalnym antagonistą tych patogenów.

W ostatnich latach zajmowałem się także patogenami, które mogą przyczyniać się do uszkodzenia systemu korzeniowego drzew leśnych. W swoich badaniach skupiłem się na dwóch grupach patogenów: grzybach z grupy *Ophiostoma s. l.* i *Leptographium s. l.* oraz grzybopodobnych lęgniowcach (Straminipila, Oomycota). W przypadku pierwszej grupy patogenów wiadomo, że grzyby te są znane ze współzycia z kornikami. Jednakże, informacje o występowaniu tych grzybów jako patogenów korzeni drzew leśnych są bardzo ograniczone. Dlatego wraz z współpracownikami podjąłem się badań zmierzających do molekularnej identyfikacji grzybów ofiostomatoidalnych infekujących korzenie sosny zwyczajnej oraz do oszacowania ich fitotoksyczności za pomocą testu biologicznego. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że korzenie chorych i martwych sosen na uprawach w Polsce są kolonizowane przez trzy gatunki grzybów: *Leptographium procerum*, *Sporothrix inflata* i *Ophiostoma pallidulum*⁴³. Najczęściej izolowany z korzeni sosen gatunek – *S. inflata* oraz stosunkowo rzadki – *O. pallidulum* zostały po raz pierwszy stwierdzone na korzeniach sosny zwyczajnej. Częstość izolowania *S. inflata* i *O. pallidulum* była skorelowana ze stanem zdrowotnym drzew. Grzyby te były znacznie częściej izolowane z korzeni drzew martwych niż z korzeni drzew chorych. W teście fitotoksyczności, *S. inflata* i *O. pallidulum* nieznacznie redukowały wzrost łodygi i elongację korzeni *Lepidium sativum*, natomiast *L. procerum* istotnie ograniczał rozwój łodygi i korzeni, co sugeruje, że może on istotnie wpływać na dysfunkcję korzeni sosny. Z kolei grzybopodobne lęgniowce są znane jako groźne patogeny drobnych korzeni drzew leśnych w Europie. Jednakże bardzo mało wiadomo o występowaniu tych organizmów w polskich drzewostanach dębowych i ich roli w zjawisku zamierania dębu. Dlatego razem z dr hab. Hanną Stępniewską (Katedra Fitopatologii Leśnej UR Kraków) postanowiłem ustalić częstotliwość występowania *Phytophthora* spp. w drzewostanach dębowych południowej Polski oraz wzajemne relacje pomiędzy

⁴¹Kowalski S., Jankowiak R. 1997. Badania mikotrofizmu modrzewia europejskiego (*Larix decidua* Mill.) na wybranych rekultywowanych powierzchniach po pożarze całkowitym lasu w Rudach Raciborskich. Zeszyty Naukowe A.R. w Krakowie, Leśnictwo 26: 63-74.

⁴²Jankowiak R. 2000. Fungi inhabiting stumps of *Pinus nigra* depending on the period of their exposure. Acta Mycol. 35(2): 291-301.

⁴³Jankowiak R., Bilański P., Kolařík M., Wasiuta D. 2012. Root-colonizing ophiostomatoid fungi associated with dying and dead young Scots pine in Poland. Forest Pathol. 42 (6): 492-500.

obecnością tych patogenów w drzewostanach a stanem zdrowotnym drzew⁴⁴. W badaniach tych przeprowadzono również analizę wpływu różnych czynników siedliskowych (pH gleby, typ gleby i składu gatunkowego drzewostanu) na występowanie *Phytophthora* spp. oraz ustalono patogeniczność wyizolowanych z drzewostanów dębowych izolatów. *Phytophthora* spp. w próbkach gleby były gatunkami niestałymi i charakteryzowały się niską częstotliwością występowania. W próbkach gleby stwierdzono obecność czterech gatunków z rodzaju *Phytophthora*. Wśród nich, najczęściej występowała *P. plurivora*. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na słaby związek pomiędzy obecnością *Phytophthora* spp. a stanem zdrowotnym drzew oraz na silny związek pomiędzy występowaniem *Phytophthora* spp. a pH gleby. Dodatkowo warto zaznaczyć, że w badaniach tych zostały także zidentyfikowane lęgniowce należące do rodzaju *Phytophythium* i *Pythium*. Do najczęstszych organizmów z tej grupy należały: *Pythium anandrum*, *Phytophythium citrinum* i *Phytophythium citrinum*-like.

Celem kolejnych badań z tego zakresu było oszacowanie podatności różnych proveniencji i rodów dębu szypułkowego na zasiedlenie przez groźnego patogenu korzeni drobnych dębu - *Phytophthora cambivora*⁴⁵. Z przeprowadzonych badań wysunięto następujące wnioski: 1) W obrębie polskich pochodzeń dębu szypułkowego wykazano wysoki poziom zmienności międzypopulacyjnej podatności pędów na zasiedlenie przez *P. cambivora*. Do proveniencji szczególnie podatnych zaliczono: Zaporowo, Runowo, Opole i Krotoszyn, natomiast pochodzenia z Chojnowa, Siedlec, Płocka, Krotoszyna-90 i Wioski były stosunkowo odporne, 2) Wykazano, że w obrębie większości analizowanych populacji dębu szypułkowego istnieją rody o różnej podatności na zasiedlenie przez *P. cambivora*, 3) Wykazano pewne różnice w podatności różnych proveniencji i rodów dębu szypułkowego na zasiedlenie przez badane izolaty grzyba *P. cambivora*.

Z tego zakresu, w chwili obecnej prowadzę także wspólne badania z dr. hab. Hanną Stępniewską nad występowaniem grzybów z rodzaju *Ilyonectria*, *Neonectria* i *Fusarium* w drzewostanach jodłowych i bukowych. W pierwszej pracy z tego zakresu wykazano, że jednym z czynników redukujących odnowienie naturalne buka są grzyby z rodzaju *Cylindrocarpon* i *Fusarium*⁴⁶, zaś w drugiej planuje się przedstawić charakterystykę genetyczną izolatów *Ilyonectria* spp. na podstawie porównań sekwencji wielogenowych.

• SYMPTOMATOLOGIA I ETIOLOGIA CHOROÓB DRZEW LEŚNYCH W POLSCE

Najważniejszą pracą z tego zakresu jest opublikowana wspólnie z prof. dr hab. Tadeuszem Kowalskim praca poświęcona obserwacjom pierwszego pojawu *Dothistroma septospora* w Polsce⁴⁷. Badania przeprowadzone na *Pinus nigra* w Nadleśnictwie Miechów w znaczący sposób przyczyniły

⁴⁴Jankowiak R., Stępniewska H., Bilański P., Kolařík M. 2013. *Phytophthora* species associated with *Quercus robur* stands in southern Poland. Dendrobiology (przesłane do redakcji).

⁴⁵Jankowiak R., Banach J., Balonek A. 2013. Podatność polskich proveniencji i rodów dębu szypułkowego (*Quercus robur*) na zasiedlenie przez *Phytophthora cambivora*. Leśn. Prac. Bad. Vol. 74 (2): 161–170.

⁴⁶Szwagrzyk J., Stępniewska H., Gratzer G., Szewczyk J., Veselinovic B., Jankowiak R. 2013. Fungi reduce germination rate of beechnuts in old-growth temperate forests: Can it be a mechanism preventing long-term dominance of beech. Forest Ecol. Manag. (przesłane do redakcji).

⁴⁷Kowalski T., Jankowiak R. 1998. First record of *Dothistroma septospora* (Dorog.) Morelet in Poland: a contribution to the symptomology and epidemiology. Phytopathol. Pol. 16: 15-29.

się do rozszerzenia wiedzy na temat symptomatologii i epidemiologii tego patogena. W badaniach wykazano, że do najbardziej charakterystycznych symptomów chorobowych w Polsce należą czerwone poprzeczne prążki na porażonych igłach, a makrokonidia występują na porażonych lub zamarłych igłach w ciągu całego sezonu wegetacyjnego, z kulminacją od maja do lipca. Częstotliwość wytwarzania makrokonidiów zależy także m.in. od wieku igieł. W pracy tej podano także inne aspekty z zakresu symptomatologii i epidemiologii.

Prowadzone przeze mnie badania rozszerzyły także wiedzę na temat ważnego patogenu żołądźi – *Ciboria batschiana*⁴⁸. Przeprowadzone przeze mnie izolacje grzybów z żołądźi zaatakowanych przez *Curculio glandium* wykazały, że były one często zasiedlone przez *C. batschiana*, co może sugerować, że ryjkowiec ten podobnie jak *Curculio propinquus* we Włoszech, może być wektorem tego groźnego patogenu. Badania te wykazały ponadto, że uszkodzone żołądźie są licznie zasiedlane przez *Alternaria alternata* oraz grzyby z rodzaju *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* oraz *Fusarium*. Grzyby te były izolowane z różną częstością, zależnie od umiejscowienia żołądźi. Grzyby z rodzaju *Alternaria* i *Aspergillus* częściej porażały żołądźie znajdujące się na pędach, natomiast grzyby z rodzaju *Mucor*, *Fusarium* i *Penicillium* znacznie częściej kolonizowały żołądźie opadłe na ziemię.

Opisałem także po raz pierwszy w Europie występowanie grzyba *Leptographium piriforme*⁴⁹. Do tej pory, gatunek ten znany był wyłącznie z zachodniej Kanady. Grzyb ten został wyizolowany z opadłej cetyny sosnowej w Nadleśnictwie Olkusz. W pracy podałem charakterystykę morfologiczną gatunku oraz przeprowadziłem doświadczenie infekcyjne z użyciem dwuletnich sadzonek sosnowych. Doświadczenie to wykazało, że gatunek ten ma zdolności patogeniczne w stosunku do sosny, jednak poziom jego wirulencji nie jest zbyt wysoki.

W pozostałych pracach mających charakter komunikatów naukowych stwierdziłem, że grzyb *Chalara ovoidea* jest pospolitym grzybem występującym w obrębie nekroz i wycieków śluzu na pniach buków w drzewostanach południowo-wschodniej Polski⁵⁰. Badania wskazują, że grzyb ten na buku jest słabym patogenem przyrannym. W kolejnej pracy przedstawiłem charakterystykę morfologiczną *Ophiostoma karelicum* - nowego gatunku dla mykobioty Polski⁵¹. Do tej pory grzyb ten był znany wyłącznie ze Skandynawii. W badaniach tych po raz pierwszy oszacowano także jego stopień patogeniczności. Okazało się, że grzyb ten jest średnio patogeniczny dla swojej głównej rośliny żywicielskiej – brzozy brodawkowatej.

⁴⁸Jankowiak R. 2008. Fungi occurring in acorns of *Quercus robur* L. infested by insects. Acta Sci. Pol. Silv. Colendar. Rat. Ind. Lignar. 7(1): 19-29.

⁴⁹Jankowiak R., Kolařík M. 2010. *Leptographium piriforme* - first record for Europe and of potential pathogenicity. Biologia 65/4: 754-757.

⁵⁰Stępniewska H., Jankowiak R. 2011. Contribution to the occurrence and pathogenicity of *Chalara ovoidea* in beach stands in Poland. Phytopathologia 59: 39-41.

⁵¹Jankowiak R. 2011. First report of *Ophiostoma karelicum* from birch stands in Poland. Phytopathologia 59: 55-58.

Pozostała działalność naukowo-badawcza

Byłem kierownikiem trzech krajowych projektów badawczych finansowanych przez KBN lub NCN oraz dwóch grantów uczelnianych. Odbylem krótkoterminowy staż w Laboratorium Genetyki i Metabolizmu Grzybów w Instytucie Mikrobiologii AV ČR w Pradze oraz uczestniczyłem w 7 krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych, na których byłem autorem 9 referatów i posterów. Recenzowałem 2 artykuły w czasopismach zagranicznych znajdujących się w bazie JCR. Za swoją działalność naukową zostałem uhonorowany 6 nagrodami Rektora AR/UR. Szczegółowy wykaz osiągnięć naukowo-badawczych podano w załączniku 4.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Od 1998 roku prowadzę ćwiczenia kameralne i terenowe z przedmiotu fitopatologia leśna na Wydziale Leśnym Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Zajęcia te są prowadzone na kierunku Leśnictwo (studia stacjonarne i zaoczne) na studiach I i II stopnia. Dodatkowo prowadzę także ćwiczenia kameralne i terenowe z przedmiotu mikologia i ochrona grzybów w lesie na specjalności Ochrona Zasobów Leśnych oraz elektyw o nazwie grzyby kapeluszowe siedlisk borowych i lasowych. Byłem promotorem 23 prac dyplomowych oraz recenzentem 10 prac.

Szczegółowy wykaz osiągnięć dydaktycznych, popularyzatorskich, organizacyjnych oraz omówienie współpracy z instytucjami, organizacjami i towarzystwami naukowymi znajduje się w załączniku 4.

Podsumowanie dorobku naukowego⁵²

- A. Liczba wszystkich publikacji **43**
- B. Liczba publikacji po uzyskaniu tytułu doktora **38**
- C. Liczba publikacji w czasopismach z bazy Journal Citation Reports **21**
- D. Liczba publikacji samodzielnych **15**
- E. Liczba publikacji współautorskich (2 autorów) **19**
- F. Liczba publikacji współautorskich (3 i więcej autorów) **8**
- G. Liczba monografii współautorskich **1**
- H. Łączna liczba punktów za wszystkie publikacje **575**
- I. Łączna liczba punktów za publikacje po uzyskaniu stopnia doktora **568**
- J. Łączna liczba punktów za publikacje w czasopismach z bazy JCR **495**
- K. Impact Factor wszystkich publikacji: **20,985**
- L. Łączna liczba cytowań **56**
- Ł. Liczba cytowań bez autocytaowań **36**
- O. Index Hirscha **5**



Kraków, 06 maja 2013 r.

⁵² Liczbę punktów obliczono według wykazu czasopism ogłoszonego w komunikacie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 13 lipca 2012 r., a impact factor publikacji naukowej według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania.