



Raport z projektu badawczego: Określenie składu gatunkowego grzybów biorących udział w zamieraniu wierzchołków pędów kosodrzewiny i zbadanie charakteru objawów chorobowych im towarzyszących oraz ich związku z przyrostem radialnym pędów na terenie Tatr Zachodnich

Wykonawcy:

dr hab. inż. Czesław Bartnik

mgr inż. Dominika Ledwich

Badania dofinansowano ze środków funduszu leśnego przekazanych przez Lasy Państwowe

Kraków, listopad 2023 r.

Spis treści

1. Wstęp.....	3
2. Metodyka badań.....	3
2.1. Prace terenowe.....	3
2.1.1. Analiza nasilenia symptomów chorobowych w terenie.....	3
2.2. Prace laboratoryjne.....	5
2.2.1. Izolacje grzybów.....	5
2.2.2. Identyfikacja molekularna	6
2.2. 3. Analizy dendrochronologiczne.....	7
3. Wyniki.....	8
3.1. Nasilenie zamierania pędów <i>Pinus mugo</i> w kępach i na transekcje.....	9
3.2. Mykobiota zasiedlająca pędy kosodrzewiny.....	11
3.2.1. Mykobiota wyizolowana z chorych i zdrowych pędów oraz z nasady igieł i szyszek.....	11
3.2.2 Oznaki etiologiczne występujące na zmarłych pędach.....	38
3.3. Charakterystyka objawów zewnętrznych i wewnętrznych na zamierających pędach <i>Pinus mugo</i> oraz mykobiota im towarzysząca.....	40
3.4. Wpływ wysokości n.p.m. na symptomy chorobowe i skład gatunkowy grzybów zasiedlających zmarłe pędy.....	58
3.5. Związek przyrostu radialnego kosodrzewiny z nasileniem zamierania pędów....	63
4. Wnioski końcowe.....	69

1. Wstęp

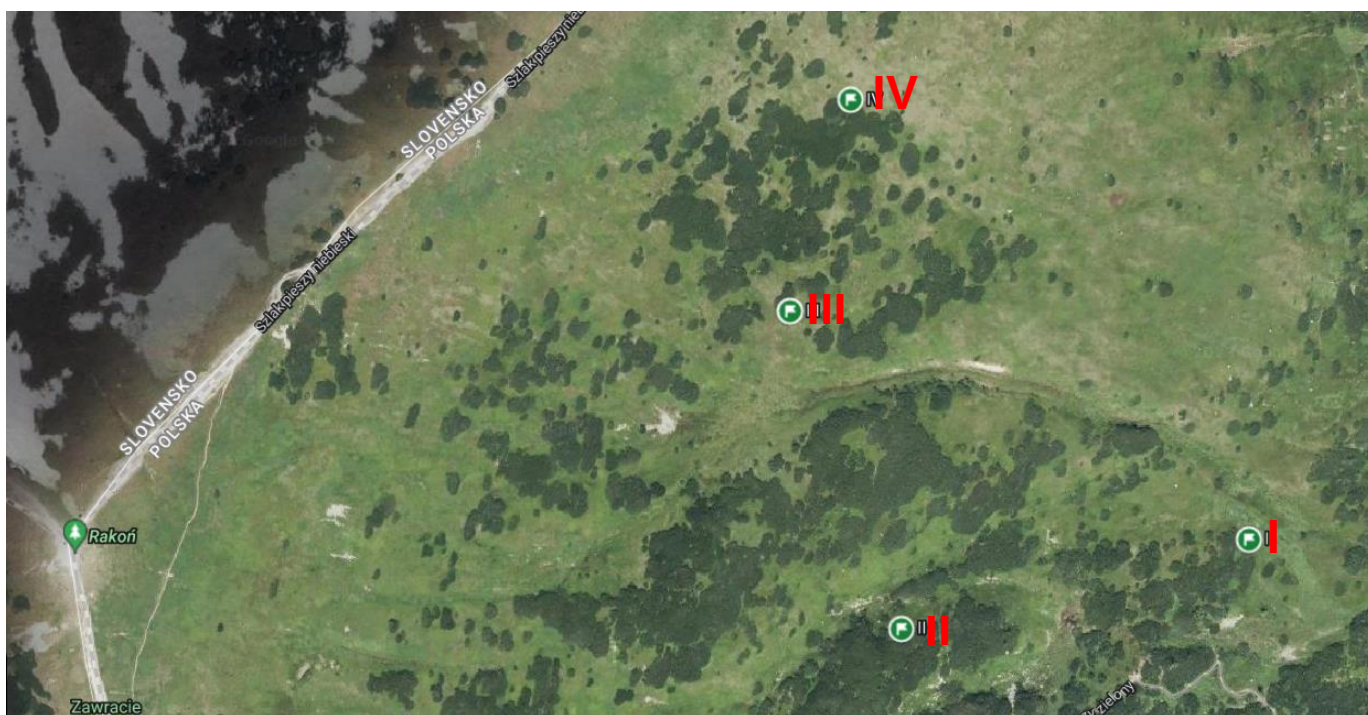
W trakcie prowadzenia badań nad przyczynami masowego przebarwienia i zamierania aparatu asymilacyjnego, zaobserwowano w 2020 r. Także zjawisko nasilonego zamierania wierzchołków pędów na badanych powierzchniach z kosodrzewiną. Przeprowadzone w tym okresie badania wykazały obecność na igłach ponad 50 gatunków grzybów, a wśród nich również gatunki, które zostały po raz pierwszy stwierdzone na terenie Polski (Bartnik i in. 2021). Choroba aparatu asymilacyjnego miała charakter epifitozyjny, utrzymując się na tym terenie przez kilka kolejnych lat i przyczyniła się do spadku przyrostu badanych pędów średnio o 50%. Autorzy projektu stawiają hipotezę, że do nasilonego zamierania wierzchołków pędów mogły przyczynić się niektóre gatunki grzybów powodujące chorobę aparatu asymilacyjnego. W związku z powyższym uzasadnione jest przeprowadzenie pilnych badań w celu wykrycia sprawcy lub sprawców tego objawu chorobowego. Zamieranie wierzchołków pędów ma znacznie większy wpływ na przeżywalność kosodrzewiny niż choroby aparatu asymilacyjnego. Biorąc pod uwagę jak istotną i różnorodną rolę pełni *Pinus mugo* w górach należy dążyć do rozpoznania nowych zagrożeń biotycznych dla tego gatunku oraz zbadać uwarunkowania związane z tą chorobą (np. związek z szerokością słoików rocznych). Dotychczasowe badania nad mykobiotą zasiedlającą zamierające pędy są bardzo skromne. Brakuje w literaturze światowej opracowań związanych z zamieraniem tego gatunku i dlatego istotne jest nadrobienie tej luki.

2. Metodyka badań

2.1. Prace terenowe

2.1.1. Analiza nasilenia symptomów chorobowych w terenie

Występowanie symptomów chorobowych oraz ich nasilenie analizowano w Choczołowskim Obwodzie Ochronnym na obszarze leżącym pomiędzy Wołowcem i Grzesiem (Ryc. 1). Badania prowadzono na wybranych 4 powierzchniach badawczych, zlokalizowanych na różnych wysokościach n.p.m. (Tab. 1).



Ryc. 1. Lokalizacja powierzchni badawczych w Dolinie Chochołowskiej

Tab. 1. Lokalizacja powierzchni badawczych		
Nr powierzchni	Współrzędne	Wysokość m n.p.m.
I	49°12'57.7"N 19°46'07.9"E	1583
II	49°12'55.9"N 19°45'56.8"E	1654
III	49°13'02.5"N 19°45'53.3"E	1705
IV	49°13'06.9"N 19°45'55.2"E	1725

Analizę symptomów chorobowych przeprowadzono na powierzchniach badawczych (kępach). Na każdej wybranej kępie rozkładano taśmę i odczytano długość odcinka mierzonej kępy. Pędy które znalazły się w bezpośrednim kontakcie z taśmą wybrano do dalszych obserwacji.

Nasilenia objawów chorobowych kosodrzewiny analizowano na 4 wybranych powierzchniach, na których prowadzono obserwacje w ubiegłych latach. Zlokalizowano je na różnych wysokościach n.p.m. i rozmieszczone zostały tak, aby możliwe było zbadanie wpływu

nasilenia objawów chorobowych w zależności od tego parametru. Analizy prowadzono wewnątrz i na zewnątrz kępy. Każda kępa została pomierzona na długość i szerokość (4 pomiary) i wewnątrz kępy (2 pomiary: północ - południe oraz zachód - wschód), a następnie policzono liczbę pędów z zamarzniętymi wierzchołkami, zlokalizowanymi wzdłuż wyznaczonych boków na szerokości 1 m.

Do dalszych badań laboratoryjnych pobrano 80 pędów z objawami zamierania wierzchołków oraz 40 pędów bezobjawowych. Pobranych wśród nich 20 pędów miało długość 50 cm, pozostałe 20-25 cm. Ponieważ niektóre z pędów o dł. 50 cm miały rozwidlenia, więc w sumie do analiz laboratoryjnych wybrano 118 pędów z objawami zamierania wierzchołków.

2.2. Prace laboratoryjne

2.2.1. Izolacje grzybów

Sposób przygotowania materiału do izolacji:

Pobrane pędy z powierzchni zostały spakowane w plastikowe worki, a po przywiezieniu z terenu przechowywane w chłodni w temp. 5 °C.

Każdy pędy fotografowano przed i po przecięciu pędu wzdłuż, w celu opisu i stwierdzenia obecności nekroz wewnątrz pędów. Pozbawione igieł pędy na przyciętym odcinku (całej długości) dezynfekowano przecierając watą nasączoną 96% etanolem. Następnie sterylnym skalpelem rozcinano pęd wzdłuż, w kierunku do wierzchołka pędu. Po wykonaniu zdjęć na sterylnej bibule, przekładano sterylnie analizowany pęd pod binokular, i sterylnym skalpelem wycinano po 6 małych fragmentów z rdzenia pędu i 6 fragmentów z tkanki pod skórą. Pobraną sterylnie tkankę roślinną umieszczano na szalkach Petriego (9 cm) na 2% pożywkę maltozową - malt extract agar (MEA; 20g/l malt extract, Difco, Sparks, MD, USA; 15g/l agar, Difco) z dodatkiem 200mg/L tetracycliny (Tetracycline HCL) .

Igły pobrane z poszczególnych pędów dezynfekowano powierzchniowo poprzez płukanie: przez 1 min. w 96% etanolu, następnie 30 sek. w roztworze podchlorynu sodu (ok. 4% dostępnego chloru), następnie przez 30 sek. w 96% etanolu i 3 min. w sterylnej wodzie, po czym igły osuszano w sterylnej bibule filtracyjnej do wyschnięcia. Po osuszeniu pobrane 6 szt. losowo igły przycinano, pozostawiając część od nasady i wykładano na 2% pożywkę MEA tak, jak w przypadku pędów.

Szyszki pobrane z pędów sterylizowano przecierając watą nasączoną 96% etanolem, a następnie przecinano wzdłuż sterylnym skalpelem. Pobrane sterylnie tkanki wewnętrzne z objawami nekrozy wykładano na 2% pożywkę MEA tak, jak w przypadku pędów.

Wszystkie pobrane tkanki do izolacji były wykładane na 2% pożywkę MEA z dodatkiem antybiotyku (Tetracycline HCL) w stężeniu 200 mg/l.

Hodowlę kultur prowadzono na pożywce MEA w ciemności sukcesywnie przez 4-6 tygodni w temperaturze 20 °C, i regularnie monitorowano co 4 - 5 dni pod kątem pojawienia się kultur grzybów. W oparciu o wstępne badania morfologiczne, pojawiające się kultury oczyszczano poprzez przenoszenie małych kawałków grzybni na wcześniej przygotowaną 2% MEA. Hodowle inkubowano w temperaturze 20 °C. Po dwóch tygodniach inkubacji, wyizolowane grzyby identyfikowano na podstawie zarodnikowania oraz innych cech morfologicznych, co dało podstawę do wyróżniania morfotypów. Następnie weryfikowano przynależność taksonomiczną morfotypów na podstawie badań molekularnych.

2.2.2. Identyfikacja molekularna

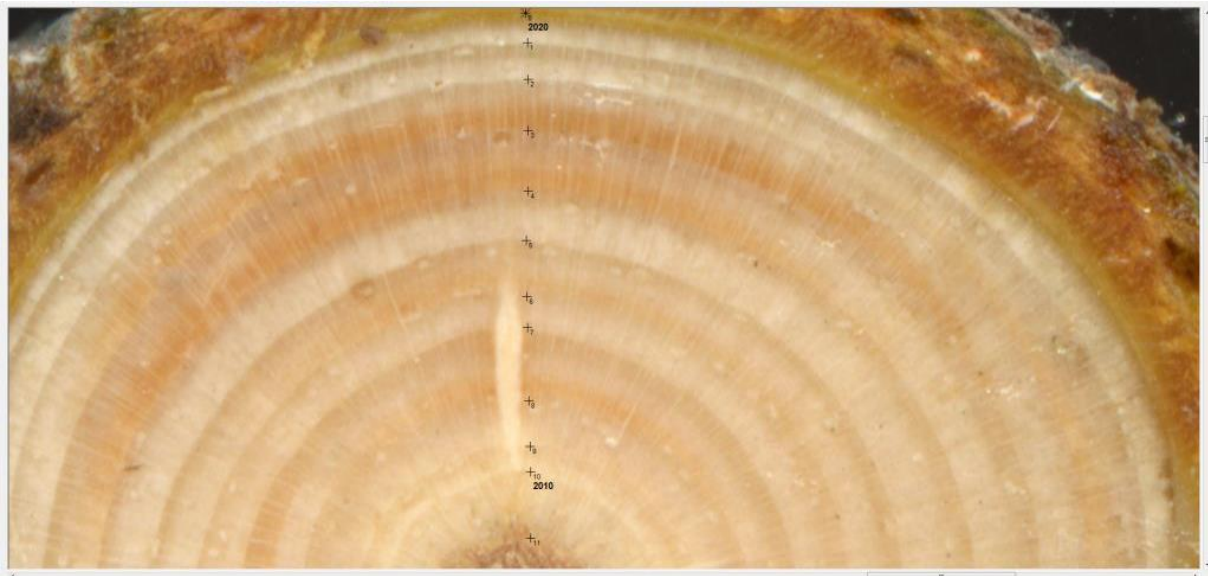
Identyfikację molekularną grzybów hodowanych na płytkach Petriego przeprowadzono na podstawie porównania sekwencji obszarów ITS rDNA (ITS1-5.8 S-ITS2), DNA ekstrahowano przy użyciu Genomic Mini AX Plant (A & A Biotechnology, Gdynia - Polska) przy użyciu protokołu producenta. Region ITS rDNA (ITS1-5.8S-ITS2) amplifikowano za pomocą starterów: ITS1F (Gardes i Bruns, 1993) i ITS4 (White i wsp. 1990). Fragmenty genów amplifikowano w 25 µl mieszaniny reakcyjnej zawierającej 0,25 µl polimerazy DNA Phusion High-Fidelity (Finnzymes, Espoo, Finlandia), 5 µl buforu PhusionHF (5x), 0,5 µl dNTP (10 mM), 0,75 µl DMSO (100%) i 0,5 µl każdego startera (25 µM). Reakcje amplifikacji przeprowadzono w termocyklerze Thermocycler Biometra T-Personal 48 (Biometra GmbH, Goettingen, Niemcy), z 35 cyklami obejmującymi: 30 sekund denaturacji w temperaturze 98 °C, 10 s wyżarzanie w 56 °C i 30 s wydłużanie 72 °C. Produkty PCR wizualizowano w świetle UV na 2% żelu agarozowym barwionym Midori Green DNA Advance. Amplifikowane produkty sekwencjonowane były za pomocą BigDye Terminator v3.1 Cycle SequencingKit (AppliedBiosystems, FosterCity, CA, USA), w Laboratorium Technik Biologii Molekularnej Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu używając tych samych starterów, które zostały użyte do reakcji PCR. Otrzymane sekwencje DNA zostały przetworzone przy użyciu oprogramowania Chromas Pro 1.6 (Technelysium, Australia) i przyrównane w bazie danych NCBI GenBank za pomocą narzędzia BLAST do wyszukiwania najbardziej podobnych i referencyjnych sekwencji.

Analiza NGS

Do analizy NGS pobrano fragmenty tkanki z rdzenia i części obwodowej z pędów o różnych symptomach chorobowych w ilości 20 szt., z pędów zdrowych w ilości 10 szt. oraz z wewnętrznej części 10 szt. szyszek. Każdą próbkę z osobna umieszczono w probówkach mikrowirówkowych o pojemności 2 ml z trzema sterylnymi kulkami ze stali nierdzewnej. Następnie fragmenty tkanek homogenizowano w młynku oscylacyjnym Retsch MM 200 (Retsch, Haan, Niemcy) przez 5 minut przy 25 Hz. Całkowity genomowy DNA wyodrębniono z tych próbek stosując kity DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN Group.) zgodnie z protokołem producenta. Wyizolowane i zamrożone DNA przesłano następnie do dalszych analiz do Laboratorium Techniki Biologii Molekularnej Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

2.2.3. Analizy dendrochronologiczne

Analiza szerokości przyrostów rocznych przeprowadzono na 20 krążkach kosodrzewiny pobranych na wysokości 50 cm (licząc od wierzchołka pędu głównego na szczycie) pędu wierzchołkowego tych drzewek. Przy wyborze pędów kierowano się stopniem nasilenia zamierania pędów wierzchołkowych. Pobrano po 5 pędów z każdej z czterech kategorii: 1- pędy bez zamierających wierzchołków, 2-słabe zamieranie (do 10% pędów wierzchołkowych zmarłych), 3 – średnio nasilone zamieranie (do 30% pędów zmarłych) i 4 – silne zamieranie (powyżej 30% pędów wierzchołkowych zmarłych). Po wyszlifowaniu krążków zeskanowano je, a następnie dokonano pomiarów za pomocą programu CooRecorder 7.6 oraz CDendro 7.6. (Ryc. 2).



Ryc. 2. Fragment pomiaru przyrostów rocznych na krążku pobranego z pędu wierzchołkowego kosodrzewiny (50 cm od wierzchołka).

3. Wyniki

3.1. Nasilenie zamierania pędów *Pinus mugo* w kępach .

Nasilenie zamierania wierzchołków pędów zwiększało się wraz z wysokością n.p.m. z 1,0 do 3,2 pędów wierzchołkowych/1m² (Tab. 2). Nieco większe nasilenie zaobserwowano wewnątrz kępy. Na badanej kosodrzewinie częściej występowały zamarłe pędy bez igieł niż obumarłe z igłami (Fot. 1A, B). Świadczy to o mniejszym nasileniu tego zjawiska, niż było to w ubiegłych latach. Średni % drzewek ze świeżymi objawami zamierania (igły zbrunatniałe nieopadłe) wahał się 2,8% na pow. I do 5,4% na pow. IV. Dokładną analizę pędów z objawami zamierania wierzchołków przedstawiono w tabeli 3. Ogółem przeanalizowano 88 pędów z objawami zamierania. Średnia długość nekroz na pędzie wahała się od 5,5 cm na pow. IV do 7,2 cm na pow. II i wynosiła średnio 6,5cm. Pędy z zamarłymi i ugiętymi wierzchołkami zwykle stanowiły połowę wszystkich zamarłych pędów, a średnia długość ich nekrozy wynosiła 5,2 cm. Natomiast pędy z zamarłymi wierzchołkami bez igieł miały nekrozy dłuższe o około 30 % (7,3 cm długości).



Fot. 1. Zamieranie wierzchołków pędów: A – widok ogólny; B – widok z bliska w obrębie Doliny Chochołowskiej w 2023 r. (Fot. C. Bartnik)

Tab.2. Nasilenie zamierania wierzchołków pędów na poszczególnych powierzchniach badawczych

Miejsce analiz	Pow. I	Pow. II	Pow. III	Pow. IV
Na zewnątrz kępy śr. na m ²	0,8	1,5	2	2,8
Wewnątrz kępy śr. na 1 m ²	1,1	1,9	2,3	3,5
Średnio zewnątrz i wewnątrz kępy	1,0	1,7	2,2	3,2
Średni % drzewek ze świeżymi objawami zamierania wierzchołków pędów (pędy ugiłone)	2,8	3,5	3,7	5,4

Tab. 3. Charakterystyka pędów kosodrzewiny z zamierającymi wierzchołkami na poszczególnych powierzchniach badawczych

Charakter objawów	Powierzchnia I	Powierzchnia II	Powierzchnia III	Powierzchnia IV	Ogółem
	liczba/średnia	liczba/średnia	liczba/średnia	liczba/średnia	liczba/średnia
Pędy z zamierającymi wierzchołkami	15	10	46	17	88
Średnia długość nekroz na pędzie [cm]	6,7	7,2	5,8	5,5	6,3
Pędy z zmarłymi ugiłonymi wierzchołkami pędów	8	2	27	8	45
Średnia długość nekrozy	5,6	5,5	5	4,6	5,2
Pędy z zmarłymi wierzchołkami bez igieł	7	8	19	9	43
Średnia długość nekrozy	8	7,6	7,1	6,3	7,3

3.2 Mykobiota zasiedlająca pędy kosodrzewiny

3.2.1 Mykobiota wyizolowana z chorych i zdrowych pędów oraz z nasady igieł i szyszek

Izolację grzybów przeprowadzono z 158 pędów i 26 szyszek. Wyizolowano z nich łącznie 2290 kultur grzybów, w tym z pędów 2169, a z szyszek 121. Z pędów z objawami zamierania wyizolowano 1757 kultur, natomiast z pędów bez widocznych objawów chorobowych wyizolowano 412 kultur. Liczba sterylnych izolatów wynosiła 1013.

Ogółem wyizolowano 130 taksonów grzybów z pędów, nasady igieł i szyszek. Miejsce ich izolacji oraz częstotliwość wstępowania zamieszczono w tabeli nr 3. Tylko 20 taksonów zasiedlało powyżej 5% pędów.

Zdecydowana większość wyizolowanych gatunków grzybów należała do gromady *Ascomycota* (122 taksony tj. 93,8%). Grzyby podstawkowe (*Basidiomycota*) były reprezentowane przez osiem gatunków (8 taksonów - 6,2%). Grzyby workowe należały do 22, dobrze zdefiniowanych filogenetycznie rzędów, wśród których dominowały gatunki z rzędów *Helotiales* (26 taksonów), *Xylariales* (15 taksonów) i *Pleosporales* (12 taksonów). Na podstawie morfologii kultur grzybów oraz analizy sekwencji regionu ITS, do poziomu gatunku udało się zidentyfikować 62 taksony. Pozostałe taksony zidentyfikowano do poziomu rodzaju lub wyższych jednostek taksonomicznych (Tab. 4). Na podstawie wstępnych analiz filogenetycznych wykonanych na podstawie uzyskanych sekwencji regionu ITS, 54 taksony reprezentowało nowe gatunki dla nauki. Dla przykładu z wnętrza pędów uzyskano stosunkowo licznie kultury grzyba należące do rodzaju *Tympanis* (Fot. 2).



Fot. 2. Kultury *Tympanis* sp. uzyskane z pędu *P. mugo* (2% MEA).

Tab. 4. Skład gatunkowy grzybów zasiedlających pędy, nasady igieł i szyszki kosodrzewiny z różnymi symptomami oraz ich status troficzny.

Nr	Takson	Rząd	Status troficzny*	Nr sekwencji/izolatu	Pochodzenie izolatu (substrat/powierzchnia)**	Nr izolatu referencyjnego oraz nr sekwencji referencyjnej	Podobieństwo %
Basidiomycota							
1	<i>Agaricales</i> sp. 1	<i>Agaricales</i>	?	506J	c/I, c/III, c/IV, f/I-IV	<i>Hygrophorus yukishiro</i> TUMH:61713, LC270640 <i>Cuphophyllus hygrocyboides</i> TWM783; OL771760 <i>Gloioxanthomyces vitellinus</i> LD 1617064, NR_171217	83-85
2	<i>Athelia</i> sp. 1	<i>Atheliales</i>	Pp	700J	a/IV	<i>Athelia acrospora</i> E.Bendiksen645/07, MT305993	99,2
3	<i>Athelia</i> sp. 2	<i>Atheliales</i>	Pp	810J	c/III	<i>Athelia acrospora</i> E.Bendiksen645/07, MT305993	98,6
4	<i>Cantharellales</i>	<i>Cantharellales</i>		554J	a/IV	<i>Minimedusa polyspora</i> CBS 113.16; NR_145335	89
5	<i>Coprinellus micaceus</i> (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson	<i>Agaricales</i>	Sg	610J	d/II, b/III	<i>Coprinellus micaceus</i> NWFVA1565, KU712252	100
6	<i>Peniophora cinerea</i> (Pers.) Cooke	<i>Russulales</i>	S/P	737J	b/IV	<i>Peniophora cinerea</i> GLMC 947, MT156128.1	100
7	<i>Phanerochaete sordida</i> (P. Karst.) J. Erikss. & Ryvarden	<i>Polyporales</i>	S	594J	b/IV	<i>Phanerochaete sordida</i> LE<RUS>:284019, KP994362	99,8
8	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	<i>Polyporales</i>	S	679J	f/IV	<i>Trametes versicolor</i> ICMP:19973, KF727428.1	100
Ascomycota							
9	<i>Aequabiliella palatina</i> C. Kraus, Damm, S. Bien, Vögele & M. Fisch	<i>Phaeomoniellales</i>	P	627J	a/I	<i>Aequabiliella palatina</i> CBS 145018, NR 171828	99,8
10	<i>Allantophomopsis cytispora</i> (Fr.) Petr.	<i>Phacidiales</i>	El/P?	469J	c/III	<i>Allantophomopsis cytispora</i> CBS:140061, NR 132921	99,8
11	<i>Allantophomopsis lunata</i> (Shear) Crous & Carris	<i>Phacidiales</i>	El/P?	721J	a/I	<i>Allantophomopsis lunata</i> CBS 137781, NR 132922	99,8
12	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i> (M. Wilson) Crous	<i>Phacidiales</i>	P	562J	c/II	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i> CBS 322.53, MH857223	100
13	<i>Allantophomopsis</i> sp. 1	<i>Phacidiales</i>	P	617J	d/II	<i>Allantophomopsis cytispora</i> CBS 140061, NR 132921	99
14	<i>Allantophomopsis</i> sp. 2	<i>Phacidiales</i>	P	628J	a/I	<i>Allantophomopsis lunata</i> CBS 137781, NR 132922	99,4
15	<i>Allantophomopsis</i> sp. 3	<i>Phacidiales</i>	P	666J	c/I, c/III, d/IV	<i>Allantophomopsis cytispora</i> DAOM211694, KY633555	99,4-99,6

16	<i>Apiospora arundinis</i> (Corda) Pintos & P. Alvarado	<i>Apiosporaceae Incertae sedis</i>	P	451J	c/II	<i>Apiospora arundinis</i> CBS:732.71; KF144889	100
17	<i>Ascomycota</i>			520J	a/I, b/I, d/III	<i>Lophium mytilinum</i> CBS 269.34; EF596817	84
18	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	<i>Pleosporales</i>	S	603J	a/I, d/III, d/IV	<i>Alternaria alternata</i> CN145C4, OP596149	100
19	<i>Alternaria murispora</i> Ariyaw. & K.D. Hyde	<i>Pleosporales</i>	S	559J	a/II	<i>Alternaria murispora</i> MFLU 14-0758, NR 137964	99,8
20	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Pleosporales</i>	P/Sś	717J	a/I, a/III, b/I	<i>Alternaria</i> sp. P513, MZ078499	100
21	<i>Bacilliformis hyalinus</i> Ekanayaka & K.D. Hyde	<i>Phacidiales</i>		453J	c/I	<i>Bacilliformis hyalinus</i> MFLU 18-2671, NR 164306	99,6
22	<i>Barrenia</i> sp.	<i>Helotiales</i>	Ek/Sg	835J	c/I	<i>Barrenia panicia</i> RUTPP WSF1R37, NR 164236	96,3
23	<i>Biscogniauxia mediterranea</i> (clade E) (De Not.) Kuntze	<i>Xylariales</i>	En/P	496J	a/IV	<i>Biscogniauxia mediterranea</i> Bm46; MZ502544 (Portugal)	100
24	<i>Biscogniauxia</i> cf. <i>mediterranea</i> (De Not.) Kuntze	<i>Xylariales</i>	En/P	463J	a/IV, c/IV, f/II	<i>Biscogniauxia mediterranea</i> NW-FVA2274 (Germany), MG098274	99,6
25	<i>Biscogniauxia nummularia</i> (Bull.) Kuntze	<i>Xylariales</i>	P/S	677J	e/I, e/IV, f/II, f/III	<i>Biscogniauxia nummularia</i> MUCL 51395, NR 153649 <i>Biscogniauxia nummularia</i> CBS 969.70, MH860015	99,8-100 100
26	<i>Boeremia</i> sp.	<i>Pleosporales</i>	P/EI	547J	a/IV	<i>Boeremia foveata</i> CBS 200.37, MW810263 <i>Boeremia exigua</i> var. <i>populi</i> CBS 100167, NR 158231	100
27	<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	<i>Helotiales</i>	P/Sś	551J	a/IV, c/I	<i>Botrytis cinerea</i> DAOM:192631, KF859920	100
28	<i>Capturomyces</i> sp.	<i>Leotiales</i>	?	633J	d/I	<i>Capturomyces luteus</i> CBS 144839, NR 165905	95
29	<i>Cenangium ferruginosum</i> Fuckel	<i>Helotiales</i>	P/EI	474J	b/III	<i>Cenangium ferruginosum</i> CBS 132.58, MH857721	100
30	<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	<i>Sordariales</i>	Sś	541J	a/IV, c/IV, f/III	<i>Chaetomium globosum</i> CBS 814.73, MH860809	99,6-99,8
31	<i>Chaetomium subglobosum</i> Sergeeva	<i>Sordariales</i>	Sś	852J	f/II	<i>Chaetomium subglobosum</i> MUCL 18694, NR 144826	100
32	<i>Chaetomium cochliodes</i> Palliser	<i>Sordariales</i>	Sś	549J	a/IV	<i>Chaetomium cochliodes</i> 98H, OP699773	100
33	<i>Cladosporium</i> sp. 1	<i>Capnodiales</i>	Sś /P	697J	a/I, a/III, a/IV, b/III, b/IV, d/II	<i>Cladosporium chasmanthicola</i> CPC 21300, NR 152307 <i>Cladosporium needhamense</i> CPC 22353, MF473142	100
34	<i>Cladosporium</i> sp. 2	<i>Capnodiales</i>	Sś/P	435J	c/II, c/III, c/IV, g/III	<i>Cladosporium variabile</i> CBS 121635, NR 119663 <i>Cladosporium iridis</i> CBS 138.40, EU167591	100
35	<i>Cladosporium</i> sp. 3	<i>Capnodiales</i>	Sś /P	738J	e/IV	<i>Cladosporium angustisporum</i> CBS 125983, MH863862 <i>Cladosporium pseudochalastosporoides</i> CBS 140490, NR 152296	100

36	<i>Coniochaeta acacia</i> Samarak., Gafforov & K.D. Hyde	<i>Coniochaetales</i>	S	607J	b/I, c/I, c/III, c/IV, f/I, f/II	<i>Coniochaeta acaciae</i> MFLUCC 18-0776, MT498810	99,5-100
37	<i>Coniochaeta decumbens</i> (J.F.H. Beyma) Z.U. Khan, Gené & Guarro	<i>Coniochaetales</i>	P/S	475J	a/III, a/IV, c/I – IV, f/I, f/IV	<i>Coniochaeta decumbens</i> CBS 153.42, NR 144912	99,8
38	<i>Coniochaeta nivea</i> A.E. Arnold, A.H. Harr., Y.K. Huang, J.M. U'Ren, Massimo, Knight-Connoni & Inderb.	<i>Coniochaetales</i>	P/S	444J	a/II, c/I -III, f/III	<i>Coniochaeta nivea</i> ARIZ AK0926, NR 177571	100
39	<i>Coniochaeta velutina</i> (Fuckel) Cooke	<i>Coniochaetales</i>	P/S	485J	c/I, c/II, c/IV	<i>Coniochaeta velutina</i> CBS 981.68, MH859264	99,8
40	<i>Coniochaeta</i> sp.1	<i>Coniochaetales</i>	P/S	585J	f/IV	<i>Coniochaeta deborreae</i> CBS 147215NR_173009	97,3
41	<i>Coniochaeta</i> sp.2	<i>Coniochaetales</i>	P/S	527J	a/III, c/III, c/IV, f/II	<i>Coniochaeta lignicola</i> CBS 267.33, MH855438	97,6
42	<i>Coniochaeta</i> sp. 3	<i>Coniochaetales</i>	P/S	783J	c/I, c/II	<i>Coniochaeta cipronana</i> CBS 144016, NR 157478	99,1
43	<i>Coniochaeta</i> sp. 4	<i>Coniochaetales</i>	P/S	685J	f/II	<i>Coniochaeta lignicola</i> CBS 267.33, MH855438	98,3
44	<i>Coniochaeta</i> sp. 5	<i>Coniochaetales</i>	P/S	857J	f/III	<i>Coniochaeta cymbiformispora</i> NBRC 32199, LC146726	95
45	<i>Cytospora</i> sp.	<i>Diaporthales</i>	P/Sś	424J	a/I, b/I, c/I	<i>Cytospora bungeanae</i> CFCC 50495, NR 171063	99,4-99,6
46	<i>Daldinia loculata</i> (Lév.) Sacc.	<i>Xylariales</i>	S	461J	c/IV	<i>Daldinia loculata</i> M96, JF340281	100
47	<i>Dermea</i> sp.	<i>Helotiales</i>	P/Sś	500J	b/III	<i>Dermea libocedri</i> CBS 138.46, MH856142	98
48	<i>Didymella pinodella</i> (L.K. Jones) Qian Chen & L. Cai	<i>Pleosporales</i>	P/Sś	556J	a/II	<i>Didymella pinodella</i> ATCC 38814, MW945409	99,6
49	<i>Diplodia sapinea</i> (Fr.) Fuckel	<i>Botryosphaerial es</i>	P/Sś	612J	a/I	<i>Diplodia sapinea</i> CBS 117348, MT587362	100
50	<i>Epicoccum italicum</i> Qian Chen, Crous & L. Cai	<i>Pleosporales</i>	P Sś	635J	a/II	<i>Epicoccum italicum</i> CGMCC 3.18361, KY742099	100
51	<i>Epicoccum nigrum</i> (ex-type of <i>E.mezzettii</i> Goid.) Link	<i>Pleosporales</i>	P/Sś	537J	a/I, a/II, a/III, b/III, c/IV, d/II, d/III, e/II, g/I, h/II	<i>Epicoccum nigrum</i> CBS 173.38, MH643926	100
52	<i>Epicoccum</i> sp. (<i>E. nigrum</i> / <i>E. layuense</i> Qian Chen, Crous & L. Cai)	<i>Pleosporales</i>	P/Sś	634J	a/II, c/III, d/IV, e/IV	<i>Epicoccum nigrum</i> CBS 173.73, FJ426996 <i>Epicoccum layuense</i> CGMCC 3.18362, KY742107	99,6-100
53	<i>Epithamnolia</i> sp.	<i>Leotiales</i>	Pp	542J	a/IV, b/II, c/I, c/II, c/IV, f/II	<i>Epithamnolia xanthoriae</i> van den Boom 49369, KY814525	98-98,3
54	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Hypocreales</i>	P/Sś	648J	a/IV	<i>Fusarium sinense</i> CBS 122710, MH863232 <i>Fusarium tricinctum</i> CBS 393.93, MH862424	100
55	<i>Gyromitra infula</i> (Schaeff.) Quél.	<i>Pezizales</i>	S	464J	c/IV	<i>Gyromitra infula</i> CBS 113691, ON693654	99,8

56	<i>Hendersonia pinicola</i> Wehm.	<i>Pleosporales</i>	P/S	418J	a/II, b/II, c/I - IV, d/II, f/II	<i>Hendersonia pinicola</i> EBJul30-4, KT000192	100
57	<i>Helotiales</i>	<i>Helotiales</i>		791J	c/IV	<i>Hymenotorrendiella spooneri</i> ICMP 24276, NR_182466.1	91
58	<i>Herpotrichia juniperi</i> (Sacc.) Petr.	<i>Pleosporales</i>	P/S	442J	a/I, a/III, c/I, c/IV	<i>Herpotrichia juniperi</i> T01 25, FJ904455 <i>Herpotrichia juniperi</i> T01 56F, FJ904481	99,6-100
59	<i>Hormonema cf. macrosporum</i> Voronin	<i>Dothideales</i>	P/S	402J 409J 476J 620J 763J	a/I – IV, b/I – IV, c/I - IV, d/I – IV, e/I – IV, f/I – IV, g/I – IV	<i>Hormonema macrosporum</i> CBS 536.94, NR 145340	99,8
60	<i>Hyalodendriella</i> sp.	<i>Helotiales</i>	S	812J	a/I	<i>Hyalodendriella betulae</i> CBS 261.82, NR 156207	96
61	<i>Hypoxylon fragiforme</i> (Pers.) J. Kickx f.	<i>Xylariales</i>	S/EI	504J	c/I, f/II, f/III	<i>Hypoxylon fragiforme</i> CBS:206.31, MH855188	100
62	<i>Infundichalara</i> sp.	<i>Helotiales</i>	Sś	587J	a/I, b/IV, c/I – III, d/I, d/IV	<i>Infundichalara microchona</i> CBS 175.74, NR 154074	96,9-97,3
63	<i>Jackrogersella cohaerens</i> (Pers.) L. Wendt, Kuhnert & M. Stadler	<i>Xylariales</i>	S	838J	c/I	<i>Jackrogersella cohaerens</i> CBS 119126, KC477233	100
64	<i>Jackrogersella multiformis</i> (Fr.) L. Wendt, Kuhnert & M. Stadler	<i>Xylariales</i>	S	767J	f/IV	<i>Jackrogersella multiformis</i> CBS 119016, NR 154784	99,8
65	<i>Jackrogersella</i> sp.	<i>Xylariales</i>	S	626J	d/IV, f/I	<i>Jackrogersella cohaerens</i> CBS 119126, KC477233	99
66	<i>Jugulospora rotula</i> (Cooke) N. Lundq.	<i>Sordariales</i>	S	462J	c/IV	<i>Jugulospora rotula</i> FMR 12781, MT784134	100
67	<i>Lachnellula calyciformis</i> (Batsch) Dharne	<i>Helotiales</i>	P/S	426J	a/I – IV, b/I – IV, c/I – IV, f/I, f/IV	<i>Lachnellula calyciformis</i> CBS 189.66, KC464636	100
68	<i>Lachnellula hyaline</i> Dharne	<i>Helotiales</i>	P/S	419J	a/I – II, b/I – II, d/II, e/II	<i>Lachnellula hyalina</i> CBS 185.66, KC464638	100
69	<i>Lachnellula</i> sp. 1	<i>Helotiales</i>	P/S	512J	b/I, b/IV	<i>Lachnellula hyalina</i> CBS 185.66, KC464638	99,6
70	<i>Lachnellula</i> sp. 2	<i>Helotiales</i>	P/S	521J	b/IV	<i>Lachnellula suecica</i> CBS 268.59, KC464642	99,5
71	<i>Lachnellula</i> sp. 3	<i>Helotiales</i>	P/S	584J	a/II	<i>Lachnellula arida</i> CBS 203.66, KC464635	99
72	<i>Lachnellula</i> sp. 4	<i>Helotiales</i>	P/S	693J	b/III	<i>Lachnellula hyalina</i> CBS 185.66, KC464638	99,3
73	<i>Lachnellula</i> sp. 5	<i>Helotiales</i>	P/S	793J	c/III	<i>Lachnellula hyalina</i> CBS 185.66, KC464638	97,8
74	<i>Leptomelanconium allescheri</i> (Schnabl) Petr.	Incertae sedis	P	596J	b/I, c/I, c/III, c/IV,	<i>Leptomelanconium allescheri</i> MF573935	100
75	<i>Lophium mytilinum</i> (Pers.) Fr.	<i>Mytilinidiales</i>	Sś	493J	a/II, a/III, a/IV, b/IV, c/II	<i>Lophium mytilinum</i> CBS 114111, EF596819	99,8-100
76	<i>Lophium</i> sp. 1	<i>Mytilinidiales</i>	P/S	425J	a/I, b/I	<i>Lophium arboricola</i> ATCC 24411, NR 153447	99,2

77	<i>Lophium</i> sp. 2	Mytilinidiales	P/S	536J	c/II	<i>Lophium arboricola</i> ATCC 24411, NR 153447	97,8
78	<i>Lophium</i> sp. 3	Mytilinidiales	P/S	548J	a/II, a/III, a/IV, c/I, c/III, c/IV	<i>Lophium arboricola</i> ATCC 24411, NR 153447	98,6
79	<i>Lophodermium conigenum</i> (cryptic species II) (Brunaud) Hilitzer	Rhytismatales	P/Sś	563J	c/II, c/III, c/IV	<i>Lophodermium conigenum</i> Ab3, HM060650	99,8
80	<i>Lophodermium corconticum</i> Koukol, Pusz & Minter	Rhytismatales	P/Sś	471J	a/III, c/I, c/III, c/IV	<i>Lophodermium corconticum</i> CCF 4780, HG939565	99,6-100
81	<i>Lophodermium</i> sp. 1	Rhytismatales	P/Sś	494J	c/I, c/III	<i>Lophodermium resinosum</i> DAOMC 251482	92
82	<i>Lophodermium</i> sp. 2	Rhytismatales	P/Sś	531J	c/IV	<i>Lophodermium conigenum</i> Ab3, HM060650	99,2
83	Massarinaceae	Pleosporales		605J	c/III	<i>Stagonospora trichophoricola</i> CBS 136764, NR_156586	92
84	Micraspidaceae	Micraspidles		639J	a/I –IV, c/III, d/II, f/IV	<i>Micraspis acicola</i> NB-437-6B, KY633589	93,1
85	<i>Microsphaeropsis olivacea</i> (Bonord.) Höhn.	Pleosporales	P/S	538J	b/III, b/IV, c/III, c/IV	<i>Microsphaeropsis olivacea</i> NW-FVA2202, MG098249	100
86	<i>Moellerodiscus</i> sp.	Helotiales	Sś	523J	b/III, c/IV	<i>Moellerodiscus pinicola</i> TNS:F-40118, AB926079	97
87	<i>Mollisia scopiformis</i> (Kowalski & Kehr) I. Wagner, Prell & Baral	Helotiales	El Sś	805J	a/III, c/I	<i>Mollisia scopiformis</i> DAOMC 250122, MT026423.1 <i>Mollisia scopiformis</i> CBS 468.94, NR 119460	100 99,8
88	<i>Mollisia s. stricto</i> sp. 1	Helotiales	P/Sś	423J	a/I, a/III, c/I, c/III	<i>Mollisia fusca</i> CBS 555.63, MT026435	98
89	<i>Mollisia s. s. sp. 2</i>	Helotiales	P/Sś	430J	a/III, b/III, c/III	<i>Mollisia fusca</i> CBS 555.63, MT026435	98,7
90	<i>Mollisia s. s. sp. 3</i>	Helotiales	P/Sś	495J	a/IV	<i>Mollisia fusca</i> CBS 555.63, MT026435	99,1
91	<i>Mollisia s. s. sp. 4</i>	Helotiales	P/Sś	524J	a/III, f/II	<i>Mollisia fusca</i> CBS 555.63, MT026435	98,8
92	<i>Mollisia s. s. sp. 5</i>	Helotiales	P/Sś	606J	e/I	<i>Mollisia undulatodepressula</i> CBS 559.63, MT026400	98,2
93	<i>Mollisia s. s. sp. 6</i>	Helotiales	P/Sś	711J	a/I	<i>Mollisia fusca</i> CBS 555.63, MT026435	99,2
94	<i>Mollisia s. s. sp. 7</i>	Helotiales	P/Sś	797J	c/IV, f/I	<i>Mollisia fusca</i> CBS 555.63, MT026435	98-98,2
95	<i>Mollisia s. lato</i>	Helotiales	P/Sś	437J	a/I – IV, b/II – IV, c/I – IV, d/II, e/II, f/II – IV	<i>Mollisia rosae</i> CBS 230.71, MH860088	94,8-96
96	<i>Nemania diffusa</i> (Sowerby) Gray	Xylariales	P/S	517J	c/I	<i>Nemania diffusa</i> NWFVA4750, MT821236	100
97	<i>Nemania serpens</i> (Pers.) Gray	Xylariales	P/S	754J	f/IV	<i>Nemania serpens</i> CBS 679.86, OQ831989	100
98	<i>Nemania</i> sp. 1	Xylariales	P/S	576J	f/III	<i>Nemania changningensis</i> GMB 0056, NG 088222	99,2-99,6
99	<i>Nemania</i> sp. 2	Xylariales	P/S	755J	f/III	<i>Nemania rubi</i> GMB 0064, NR 177562	96,9
100	<i>Neurospora calospora</i> (Mouton) Dania García, Stchigel & Guarro	Sordariales	S	595J	c/III	<i>Neurospora calospora</i> CBS 265.51, MH868369	100

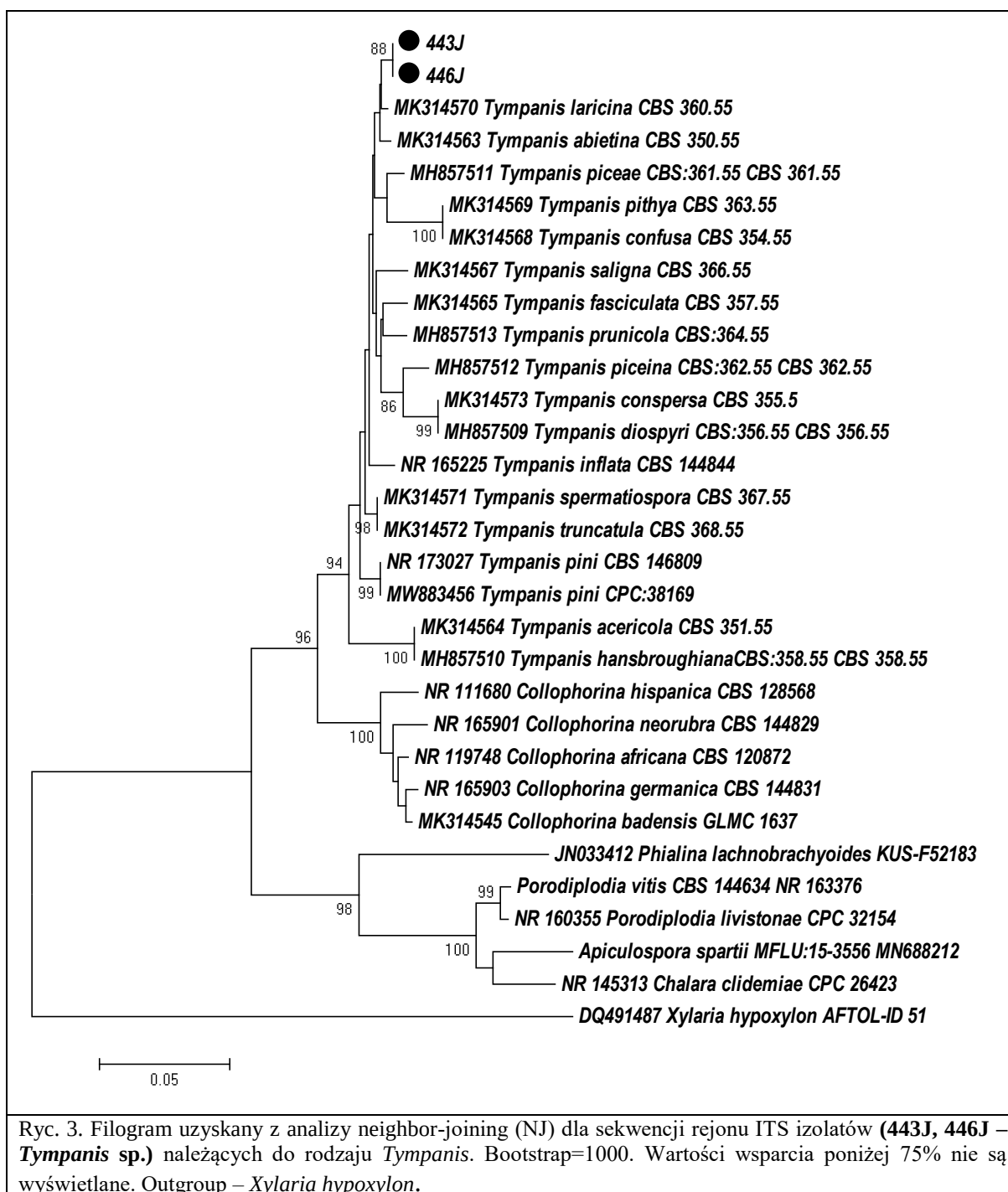
101	<i>Nigrospora gorlenkoana</i> Novobr.	Incertae sedis	Sś	560J	a/I, c/I – IV, f/I, f/II, f/IV	<i>Nigrospora gorlenkoana</i> CBS 480.73, NR 153476	99,6-99,8
102	<i>Nigrospora sphaerica</i> (Sacc.) E.W. Mason	Incertae sedis	Sś/EI/P	640J	d/III	<i>Nigrospora sphaerica</i> CBS 166.26, MH854878	99,8
103	<i>Pachyramichloridium</i> sp.	<i>Mycosphaerella</i> les	Sś /S	533J	a/IV, b/IV, g/I – IV, h/IV	<i>Pachyramichloridium pini</i> CBS 461.82, NR 145093	99,4-99,6
104	<i>Penicillium glaucoalbidum</i> (Desm.) Houbraken & Samson	<i>Eurotiales</i>	S/EI	473J	c/III, e/IV	<i>Thysanophora penicillioides</i> CBS 345.33, MH855455	99,8-100
105	<i>Penicillium bialowiezense</i> K.W. Zaleski	<i>Eurotiales</i>	S/EI	557J	a/III	<i>Penicillium bialowiezense</i> CBS 227.28, NR 165994	100
106	<i>Penicillium</i> sp. 1	<i>Eurotiales</i>	S/EI	609J	a/III	<i>Penicillium spinulosum</i> CBS 347.48, MH856382 <i>Penicillium odoratum</i> CBS 128274, MH864870	100
107	<i>Penicillium</i> sp. 2	<i>Eurotiales</i>	S/EI	665J	e/IV	<i>Penicillium momoi</i> CBS 139157, NR 144828 <i>Penicillium consobrinum</i> CBS 139144, NR 144827	100
108	<i>Penicillium</i> sp. 3	<i>Eurotiales</i>	S/EI	862J	g/IV	<i>Penicillium solitum</i> FRR 937, NR 119494 <i>Penicillium cavernicola</i> CBS 100540, KJ834505	100
109	<i>Phacidium</i> sp.	<i>Phacidiales</i>	S/EI	720J	c/I	<i>Phacidium dicosmoanum</i> NB-625-2S, KY633559 <i>Phacidium faciforme</i> NB-625-5Q, KY633561	100 100
110	<i>Phomatodes pilosa</i> L.W. Hou, L. Cai & Crous	<i>Pleosporales</i>	S	600J	a/IV, c/IV	<i>Phomatodes pilosa</i> CBS:628.68, MN973591	100
111	<i>Phaeotheca fissurella</i> Sigler, Tsuneda & J.W. Carmich.	<i>Phaeothecales</i>	P/Sś	380J	c/III, f/I - II	<i>Phaeotheca fissurella</i> CBS 520.89, MH862184	99,8
112	<i>Phaeothecaceae</i>	<i>Phaeothecaceae</i>		534J	b/II, f/I	<i>Phaeotheca fissurella</i> CBS 520.89, MH862184	90
113	<i>Phialocephala</i> sp.	<i>Helotiales</i>	Sg/Ek	796J	a/IV, c/IV	<i>Phialocephala glacialis</i> UAMH 10852, NR 111320	95
114	<i>Rosellinia corticium</i> (Schwein.) Sacc.	<i>Xylariales</i>	S/Sś/Sg/P	742J	f/IV	<i>Rosellinia corticium</i> MUCL:51693, KC477236	100
115	<i>Sirococcus conigenus</i> (Pers.) P.F. Cannon & Minter	<i>Diaporthales</i>	P	678J	a/III, b/III	<i>Sirococcus conigenus</i> CBS 101225, EF512481	100
116	<i>Soosiella</i> sp.	<i>Helotiales</i>	Sg	522J	a/I, a/II, a/IV, b/I –IV, f/I	<i>Soosiella minima</i> 1230, JX124327	96,3
117	<i>Sordaria fimicola</i> (Roberge ex Desm.) Ces. & De Not.	<i>Sordariales</i>	So	546J	a/IV, c/I, c/III	<i>Sordaria fimicola</i> CBS 485.64, MH858489	100
118	<i>Stylonectria hetmanica</i> Akulov, Crous & Sand.-Den.	<i>Hypocreales</i>	Pm	555J	c/II	<i>Stylonectria hetmanica</i> CBS 147305, NR 173440	100
119	<i>Synnemapestaloides</i> sp.	<i>Amphisphaerial</i> es	P/S	561J	a/I – II, c/II, c/IV	<i>Synnemapestaloides shangrilaensis</i> SHLA-14, MZ387995	97,5-98

						<i>Synnemapestaloides ericacearum</i> NB-846-1, MG687266	
120	<i>Therrya pini</i> (Alb. & Schwein.) Höhn.	<i>Rhytismatales</i>	P	432J	a/II, b/I	<i>Therrya pini</i> CBS 177.56, JF793677	99,8
121	<i>Therrya</i> sp.1	<i>Rhytismatales</i>	P/S	499J	a/I, b/III	<i>Therrya pini</i> 2004-11/2, JF793675	99,4
122	<i>Therrya</i> sp.2	<i>Rhytismatales</i>	P/S	631J	a/I, b/I	<i>Therrya pini</i> CBS 177.56, JF793677	94,9
123	<i>Trichoderma parapiluliferum</i> (B.S. Lu, Druzhin. & Samuels) Jaklitsch & Voglmayr	<i>Hypocreales</i>	Pm/El	582J	c/I, f/II	<i>Trichoderma parapiluliferum</i> BPI GJS 91-60, NR 134341	99,8
124	<i>Trichoderma viridescens</i> (A.S. Horne & H.S. Will.) Jaklitsch & Samuels	<i>Hypocreales</i>	Pm/El	508J	a/IV, f/I, g/III	<i>Trichoderma viridescens</i> CBS 433.34, MH855595	99,8
125	<i>Trichoderma viride</i> Pers.	<i>Hypocreales</i>	Pm/El	458J	g/III	<i>Trichoderma viride</i> GJS 05-104, DQ841741	99,8
126	<i>Tympanis</i> sp.	<i>Leotiales</i>	P/S	447J	a/II – IV, b/II, b/IV, c/IV	<i>Tympanis abietina</i> CBS 350.55, MK314563	98-99
127	<i>Variabilispora</i> sp.	<i>Leotiales</i>	?	422J	a/II	<i>Variabilispora flava</i> CBS 144845, NR 165906	97
128	<i>Varicosporium</i> sp.	<i>Helotiales</i>	Sś	505J	c/I	<i>Varicosporium delicatum</i> UMB-387.09, KF730848	97,6
129	<i>Xylaria longipes</i> Nitschke	<i>Xylariales</i>	S/Sś	416J	a/IV, c/I – IV, f/IV	<i>Xylaria longipes</i> CBS 148.73, OQ831985	100
130	<i>Xylariaceae</i>	<i>Xylariales</i>	?	578J	f/IV	<i>Rosellinia nectrioides</i> CBS 449.89, MN984622	90

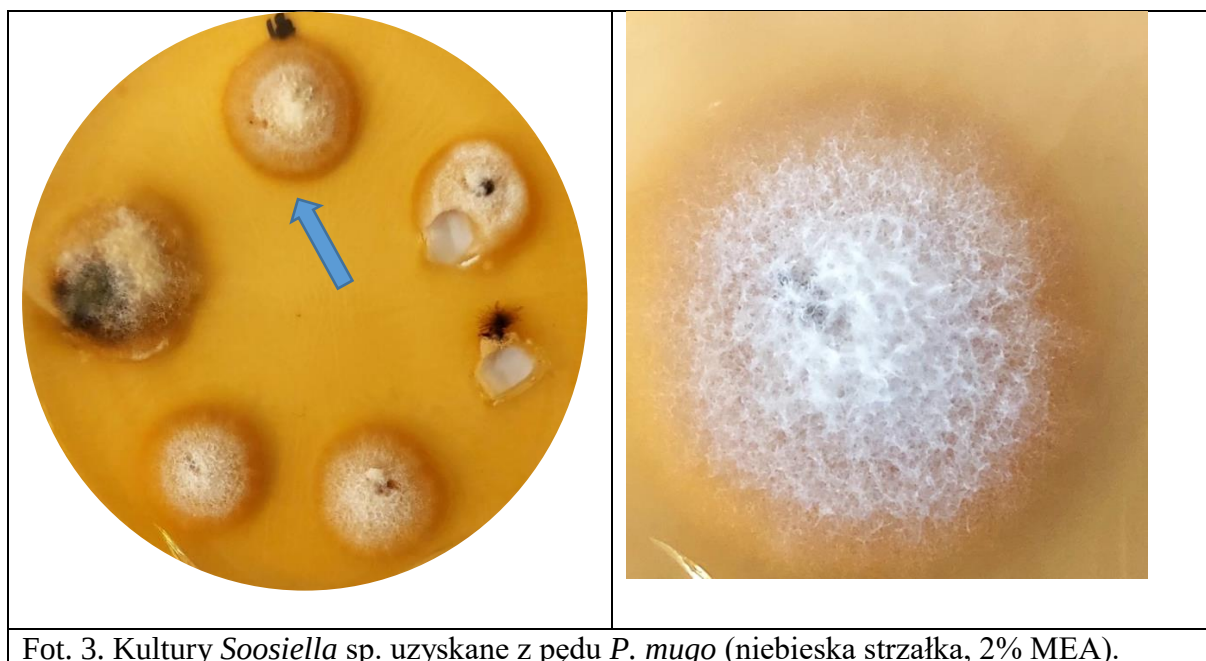
Objaśnienia do tabeli 4 * Status troficzny: S - saprotrof nieokreślony; El - endofit na liściach; En – endofit; P - patogen roślinny; Pp – pasożyt porostowy; Sś - saprotrof na ściółce; Sg - saprotrof glebowy; S - saprotrof drzewny; Ek - endofit korzeniowy; Pm – mykopasożyt; So - saprotrof na odchodach

****Pochodzenie izolatów:** a -wnętrze symptomatycznego pędu; b –obwodowe partie symptomatycznego pędu; c - nasada igieł pobrana z symptomatycznego pędu; d - wnętrze asymptomatycznego pędu; e - obwodowe partie asymptomatycznego pędu; f - nasada igieł pobrana z asymptomatycznego pędu; g - szyszka pobrana z symptomatycznych pędów; h - szyszka pobrana z asymptomatycznych pędów

Analiza filogenetyczna wykazała, że uzyskane z pędów *P. mugo* izolaty formowały odrębny kład i były najbardziej spokrewnione z *Tympanis laricina* (izolat CBS 360.55) i *T. abietina* (CBS 350.55) (Ryc. 3.).

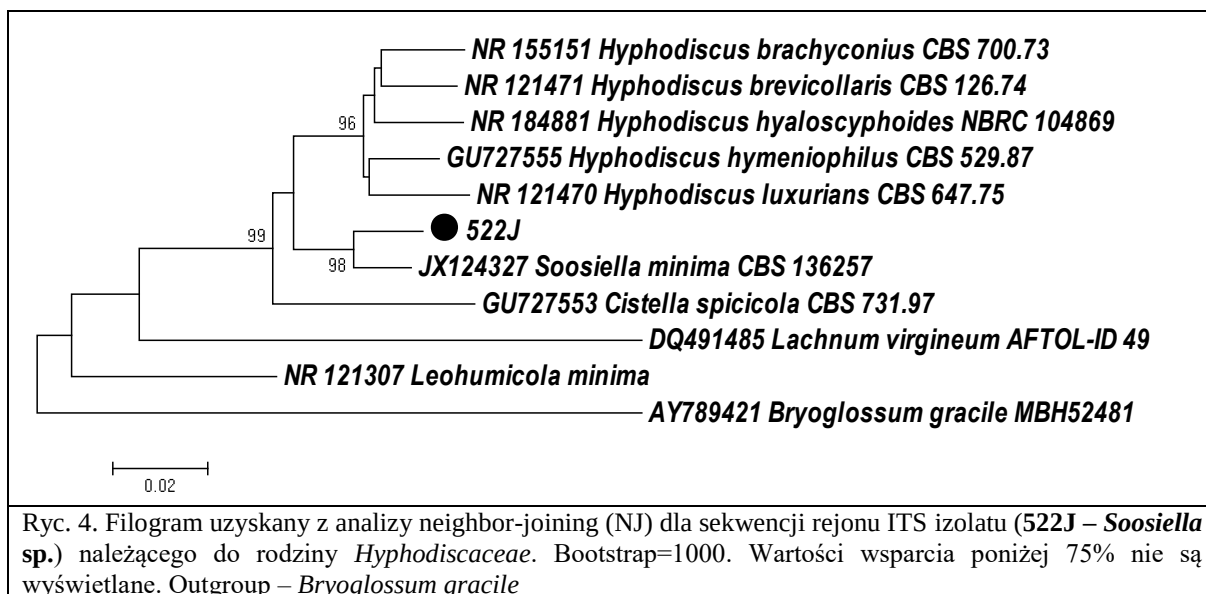


Kolejnym interesującym gatunkiem jest grzyb z rodzaju *Soosiella*. Gatunek ten był izolowany zarówno z pędów jak i igieł *P. mugo* (Fot. 3).

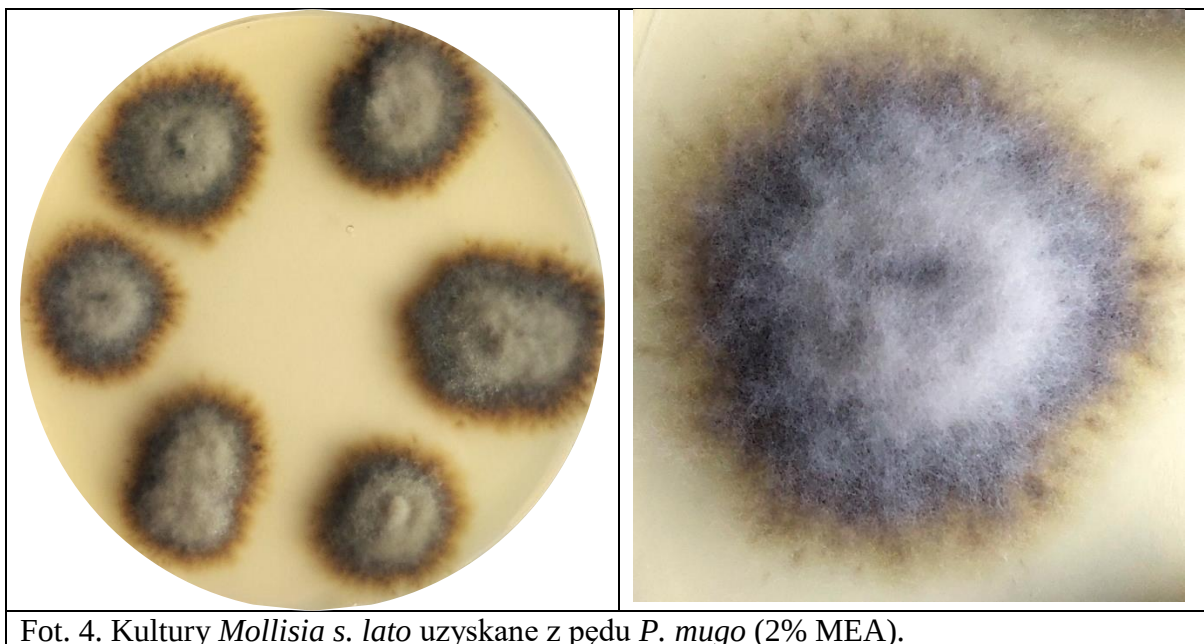


Fot. 3. Kultury *Soosiella* sp. uzyskane z pędu *P. mugo* (niebieska strzałka, 2% MEA).

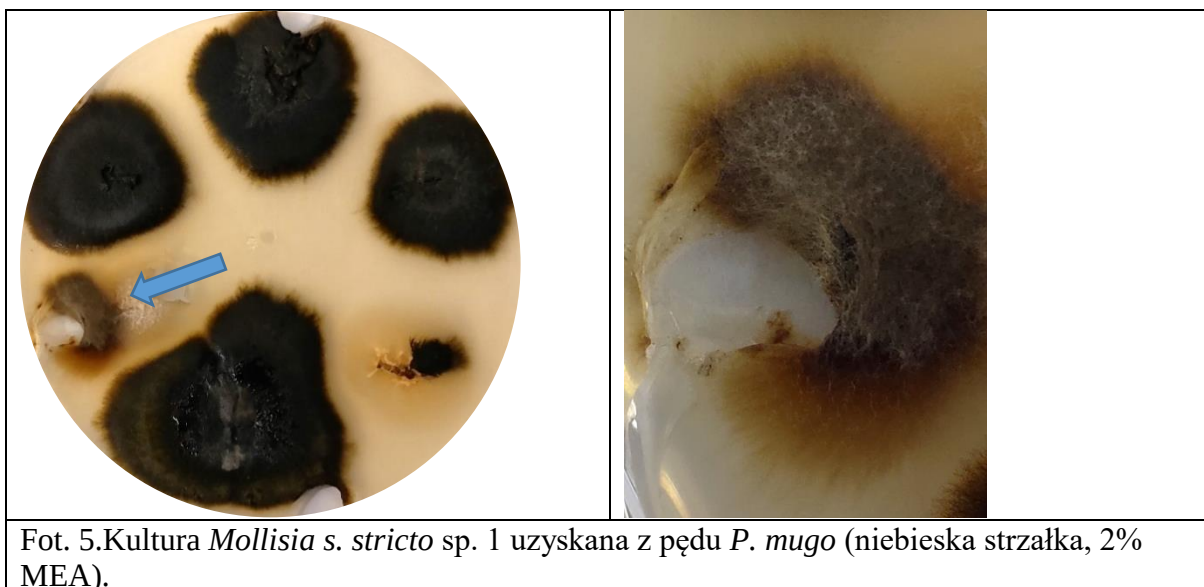
Do tej pory udało się odkryć jedynie jeden gatunek z tego rodzaju tj. *Soosiella minima*, który został stwierdzony w silnie zakwaszonej glebie w Czechach (Hujšlová i in. 2014). Analiza filogenetyczna wskazując, że gatunek ten razem z *S. minima* tworzy odrębny kład w rodzinie *Hyphodiscaceae* (Ryc. 4).



Z pędów *P. mugo* bardzo często były izolowane także gatunki z rodziny *Mollisiaceae*. Uzyskane kultury na 2% pożywce MEA były z reguły barwy szarej (Fot. 4, 5).

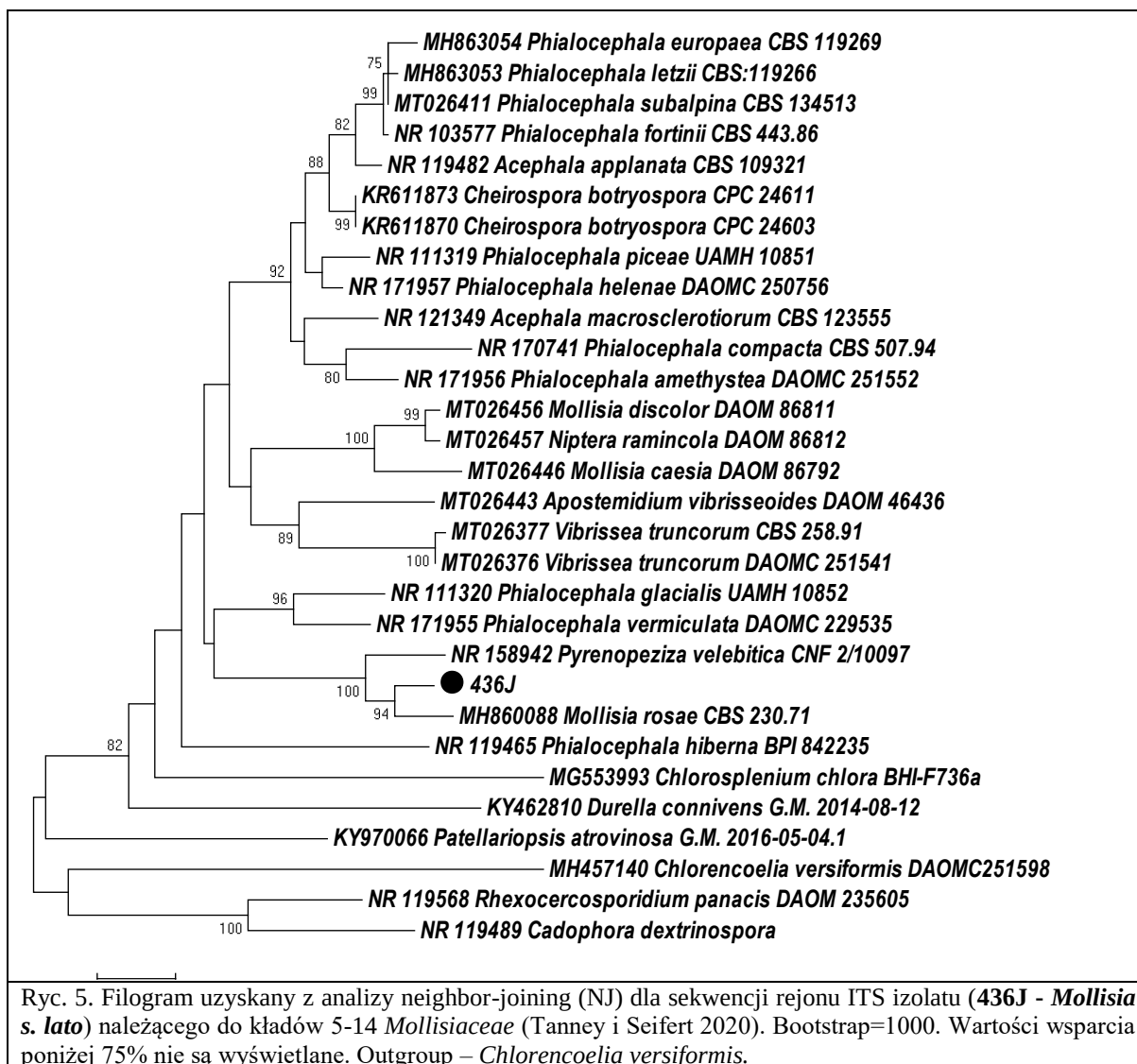


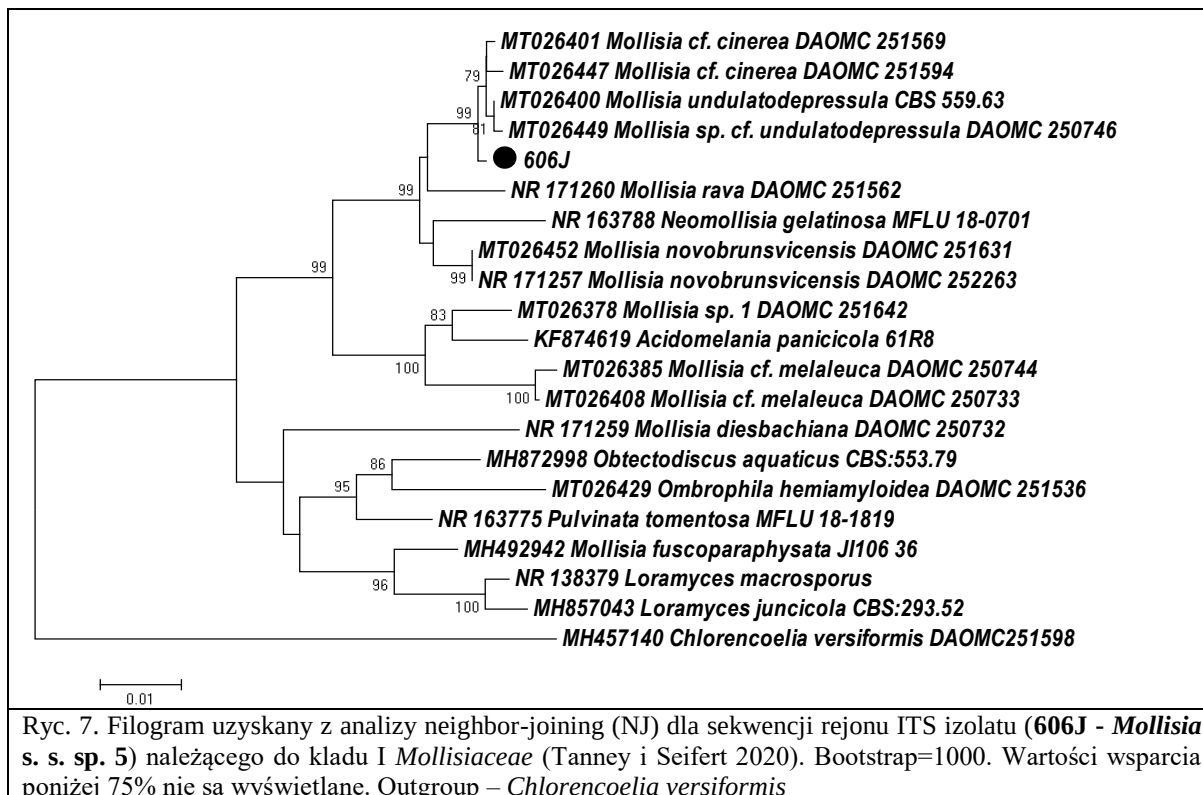
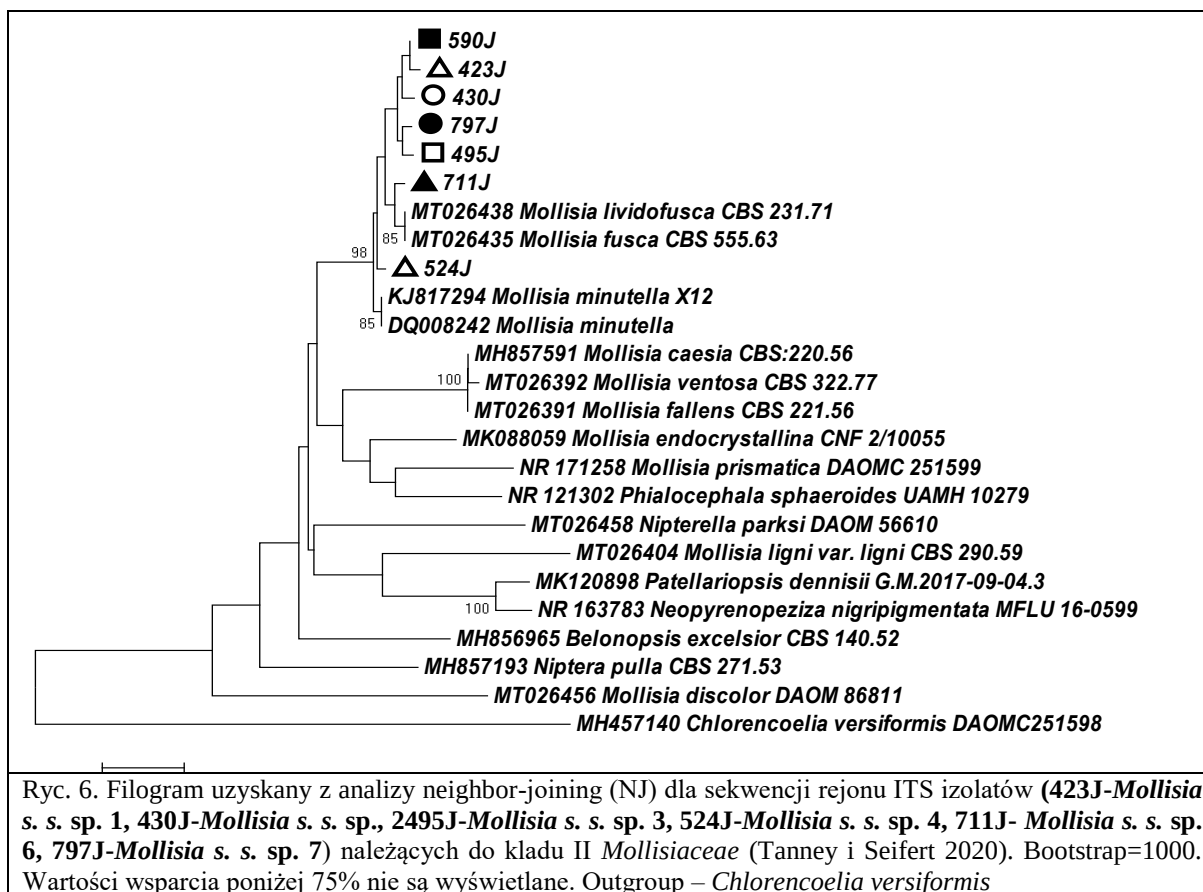
Fot. 4. Kultury *Mollisia s. lato* uzyskane z pędu *P. mugo* (2% MEA).



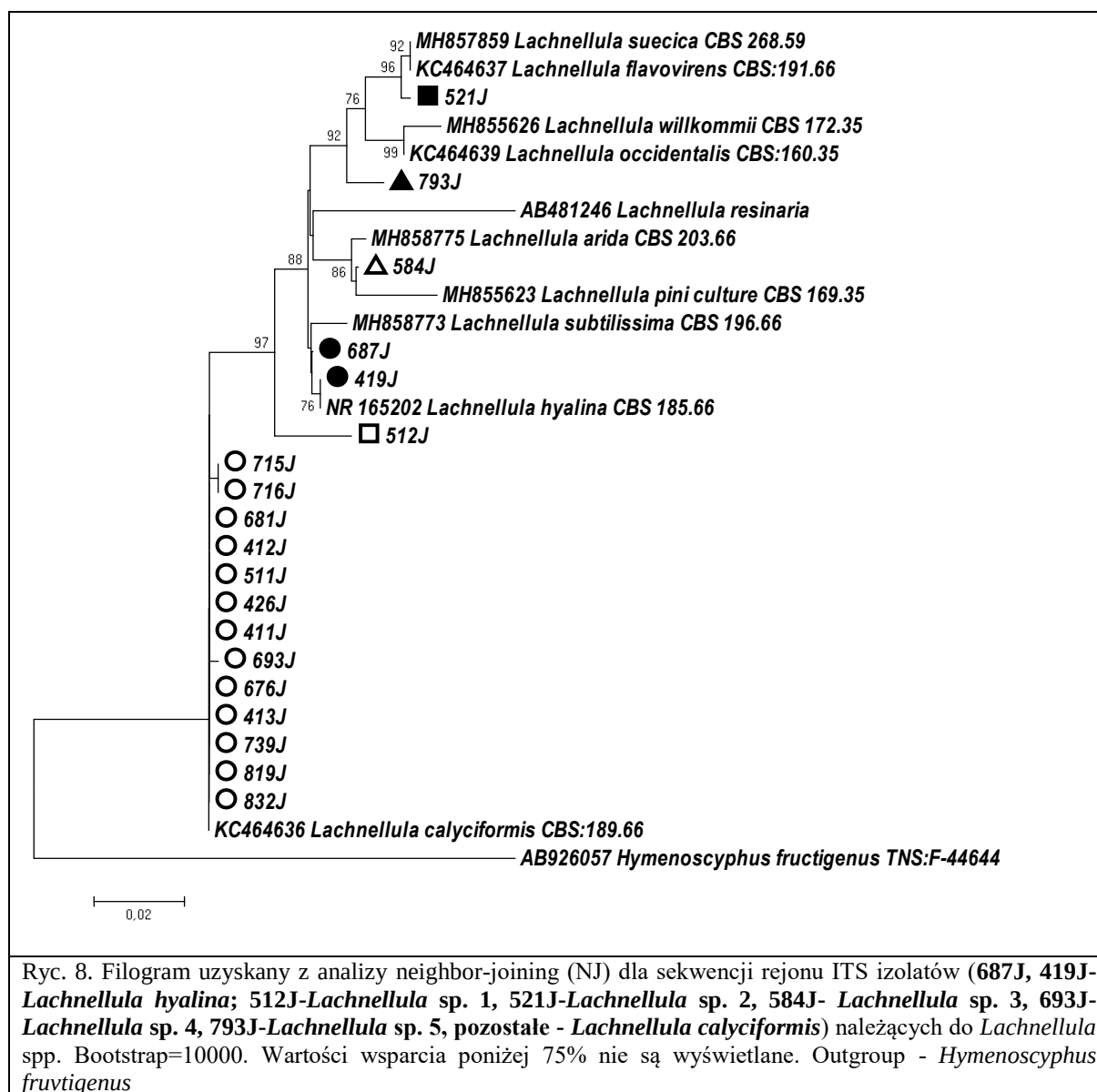
Fot. 5. Kultura *Mollisia s. stricto* sp. 1 uzyskana z pędu *P. mugo* (niebieska strzałka, 2% MEA).

Analiza filogenetyczna wykazała, że uzyskane kultury należą do ośmiu nowych dla nauki gatunków grzybów. Zdecydowana większość kultur grzybów należało do kladu 11 (Tanney i Seifert 2020), który tworzy *Mollisia rosae* (CBS 230.71) i *Pyrenopeziza velebitica* (CNF 2/10097) (Ryc. 5). Pozostałe stwierdzone gatunki należały do kladu II oraz kladu I (Ryc. 6, 7).

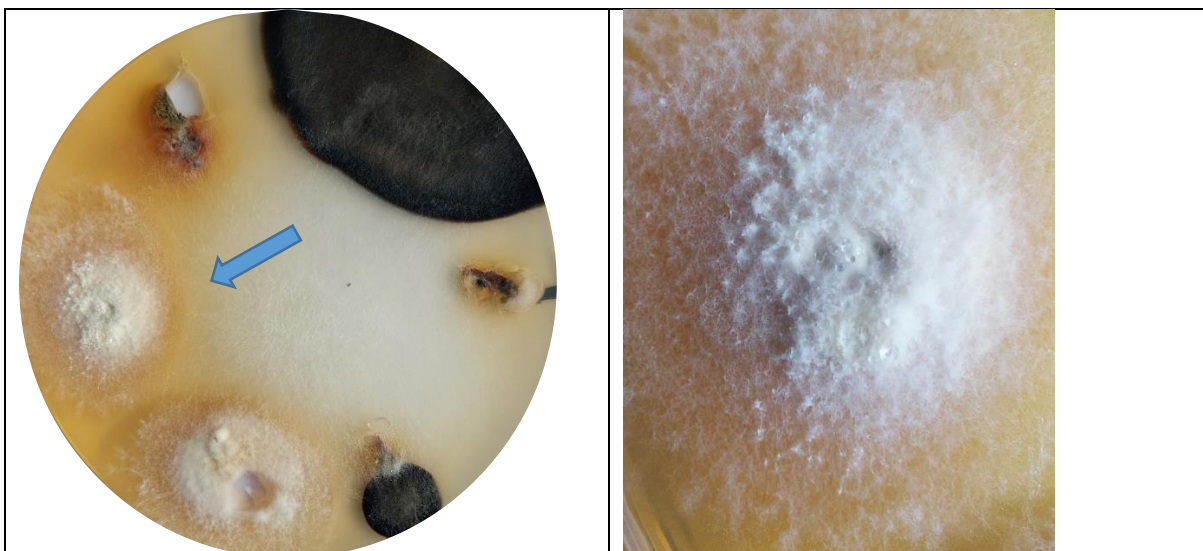




Stosunkowo dużych nowych dla nauki gatunków grzybów wykryto także w rodzaju *Lachnellula*. Obok dwóch znanych gatunków grzybów tj. *Lachnellula calyciformis* i *L. hyalina* zidentyfikowano także pięć innych nieznanych wcześniej gatunków (Ryc. 8). Grzyby z rodzaju *Lachnellula* na 2% pożywce MEA tworzyły puszyste kolonie barwy białej (Fot. 6, 7).



Ryc. 8. Filogram uzyskany z analizy neighbor-joining (NJ) dla sekwencji regionu ITS izolatów (687J, 419J-*Lachnellula hyalina*; 512J-*Lachnellula* sp. 1, 521J-*Lachnellula* sp. 2, 584J- *Lachnellula* sp. 3, 693J-*Lachnellula* sp. 4, 793J-*Lachnellula* sp. 5, pozostałe - *Lachnellula calyciformis*) należących do *Lachnellula* spp. Bootstrap=10000. Wartości wsparcia poniżej 75% nie są wyświetlane. Outgroup - *Hymenoscyphus fructigenus*

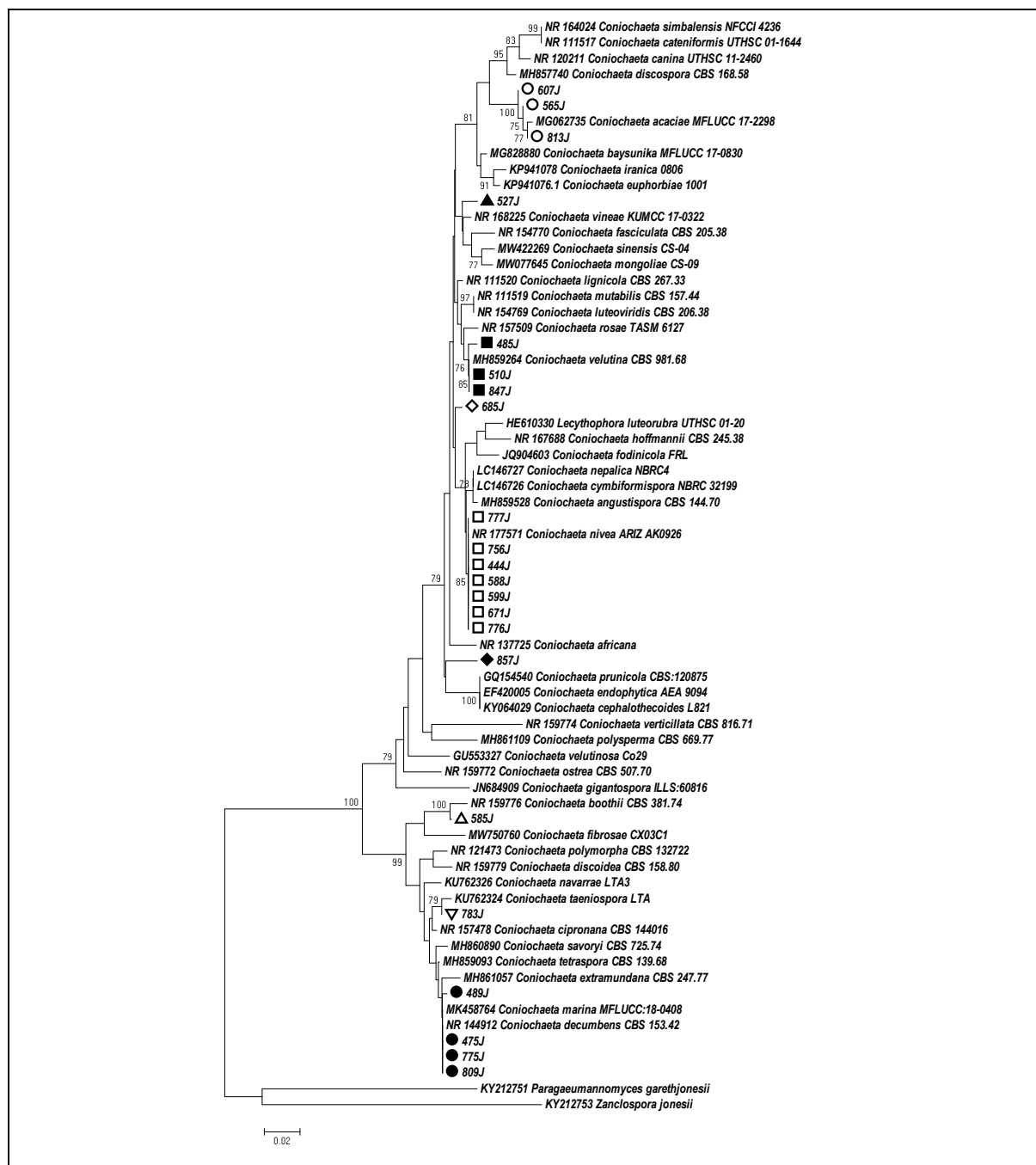


Fot. 6. Kultury *Lachnellula hyalina* uzyskane z pędu *P. mugo* (niebieska strzałka, 2% MEA).



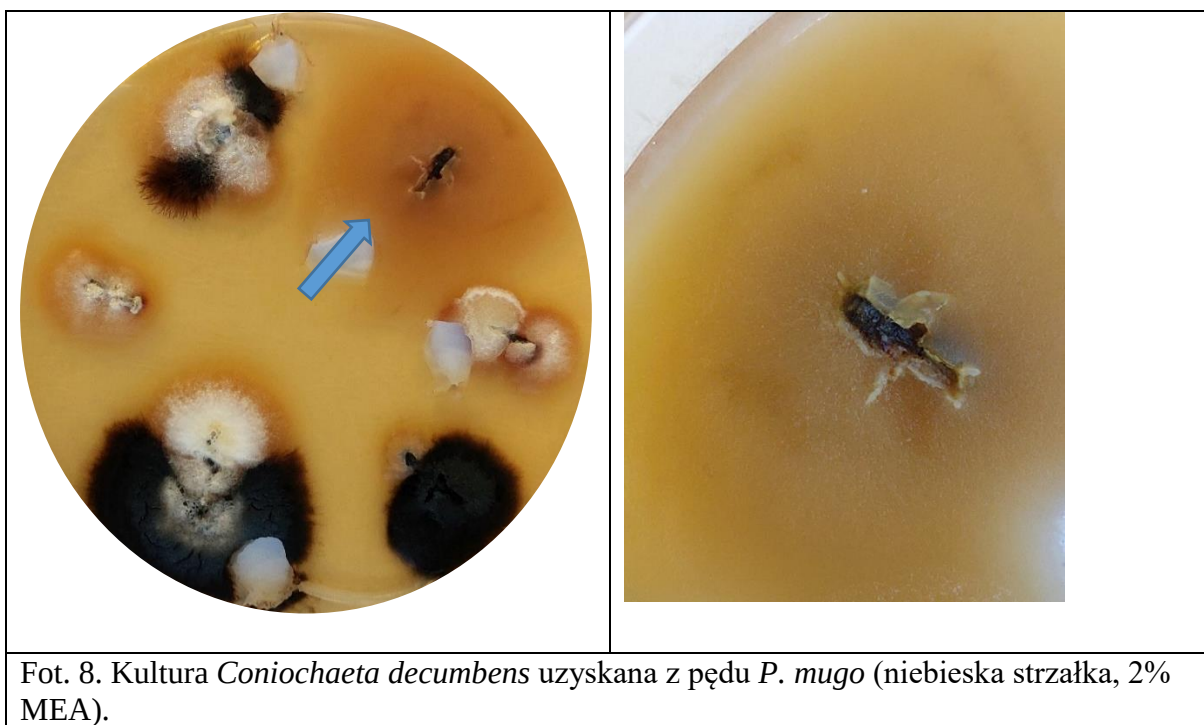
Fot. 7. Kultury *Lachnellula calyciformis* uzyskane z pędów *P. mugo* (niebieska strzałka, 2% MEA).

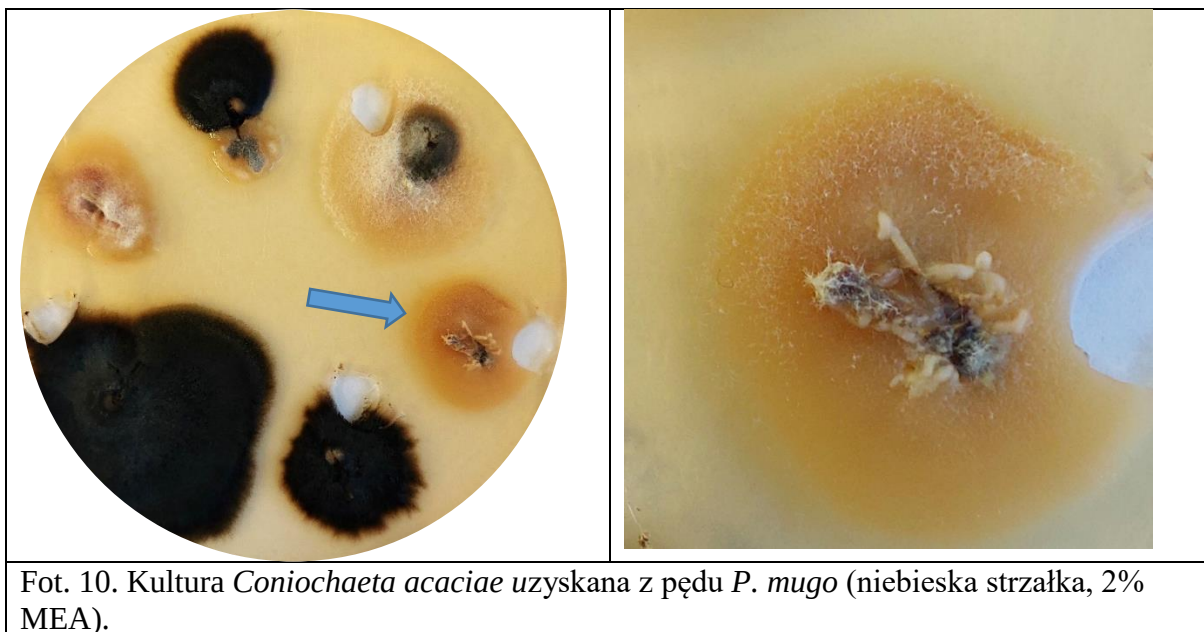
Dużym zróżnicowaniem gatunkowym odznaczał się także rodzaj *Coniochaeta*. Wśród kultur wyizolowanych z pędów *P. mugo* stwierdzono 4 znane gatunki (*C. acaciae*, *C. decumbens*, *C. nivea*, *C. velutina*) oraz 5 nieznanych wcześniej taksonów (*Coniochaeta* sp. 1-5), które tworzyły odrębne kłady (*Coniochaeta* sp. 2, sp. 4, sp. 5) lub grupowały się z *C. taeniospora* (*Coniochaeta* sp. 3) lub z *C. boothii* (*Coniochaeta* sp. 1) (Ryc. 9).



Ryc. 9. Filogram uzyskany z analizy neighbor-joining (NJ) dla sekwencji rejonu ITS izolatów (565J, 607J, 813J- *Coniochaeta acaciae*, 475J, 489J, 775J, 809J-*C. decumbens*, 444J, 588J, 599J, 671J, 756J, 776J, 777J-*C. nivea*, 485J, 510J, 847J-*C. velutina*, 585J-*Coniochaeta* sp. 1, 527J-*Coniochaeta* sp. 2, 783J-*Coniochaeta* sp. 3, 685J-*Coniochaeta* sp. 4, 857J-*Coniochaeta* sp. 5) należących do *Coniochaeta* spp. Bootstrap=10000. Wartości wsparcia poniżej 75% nie są wyświetlane. Outgroup - *Zanclospora jonesii*, *Paragaeumannomyces garethjonesii*

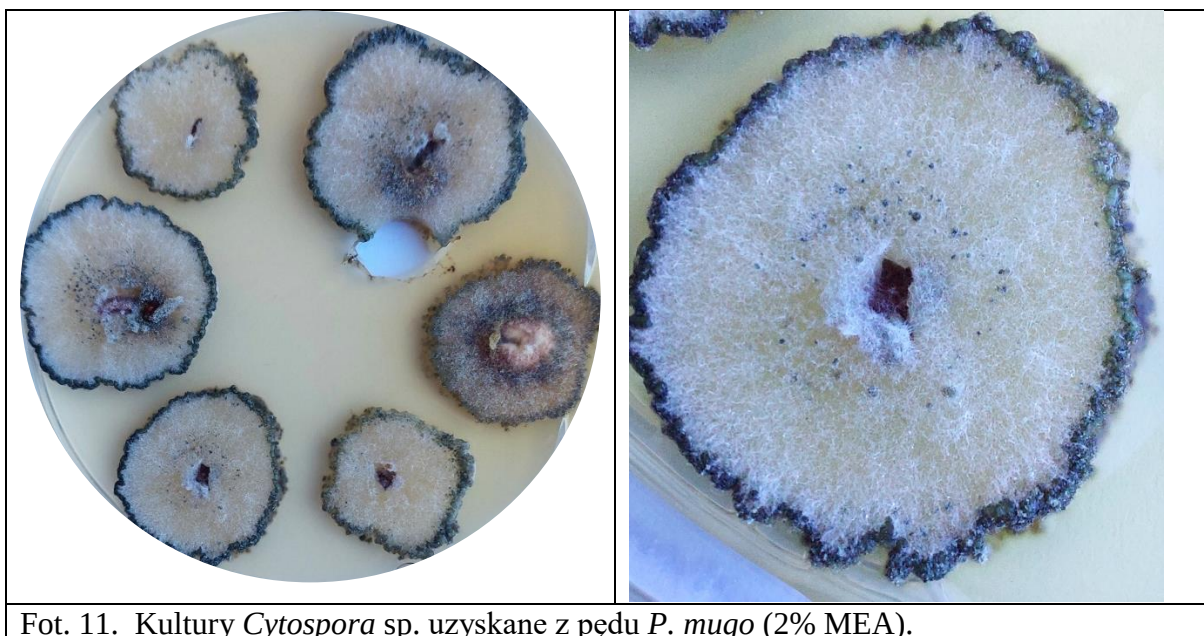
Kultury grzybów *Coniochaeta* spp. na 2% pożywce MEA charakteryzowały się ubogą białawą grzybnią powietrzną. Grzybnia substratowa była barwy jasnobrązowej (Fot. 8, 9, 10).





Fot. 10. Kultura *Coniochaeta acaciae* uzyskana z pędu *P. mugo* (niebieska strzałka, 2% MEA).

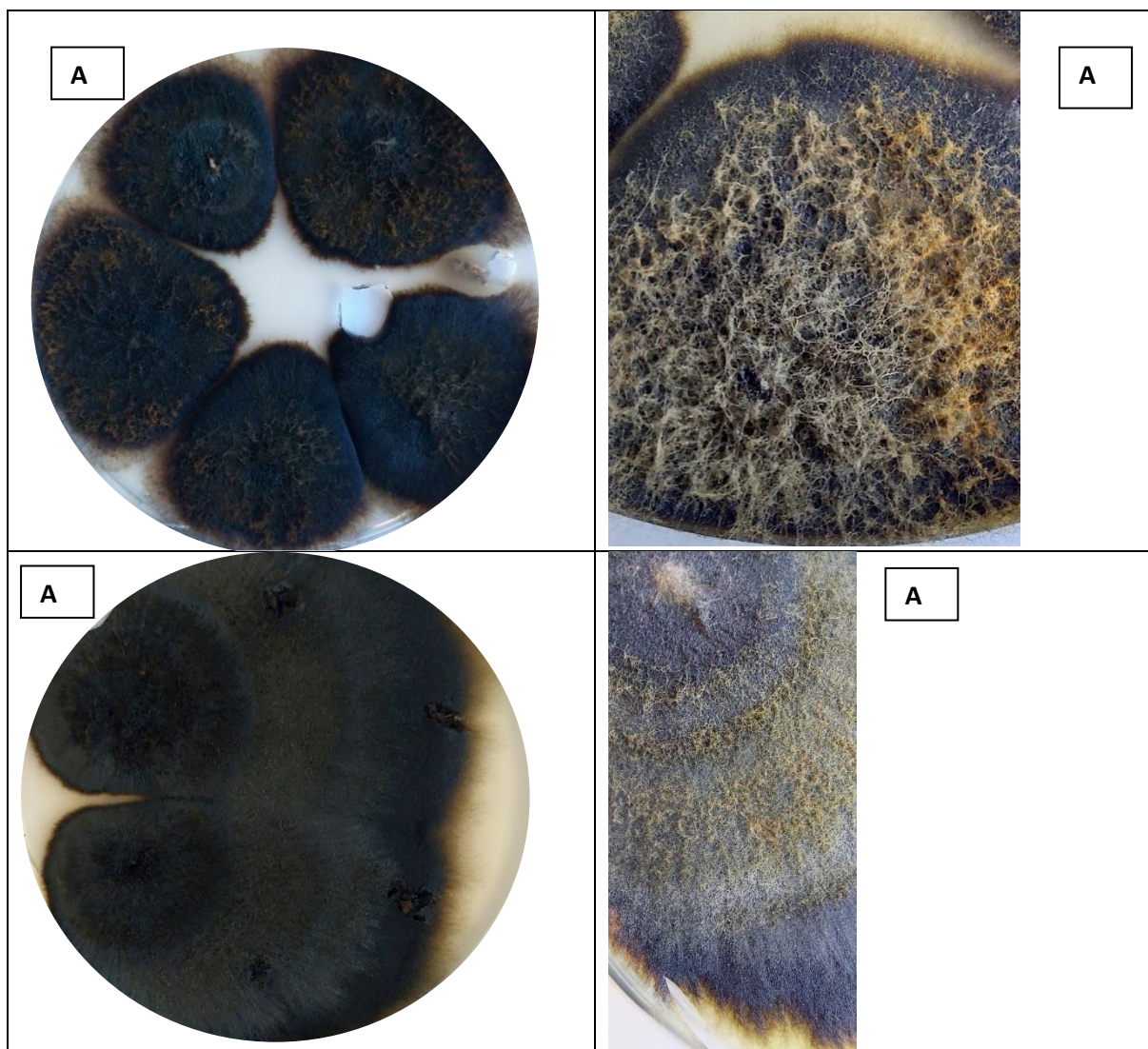
Kolejnym taksonem, który został zidentyfikowany jedynie do poziomu rodzaju jest grzyb oznaczony jako *Cytospora* sp. Gatunek ten wykazywał największe podobieństwo sekwencji ITS do *Cytospora bungeanae* (identyczność 99,4-99,6%). Takson na 2% pożywce MEA wytwarzał bardzo charakterystyczne białawe kolonie z konidioma na brzegu kultury (Fot.11).

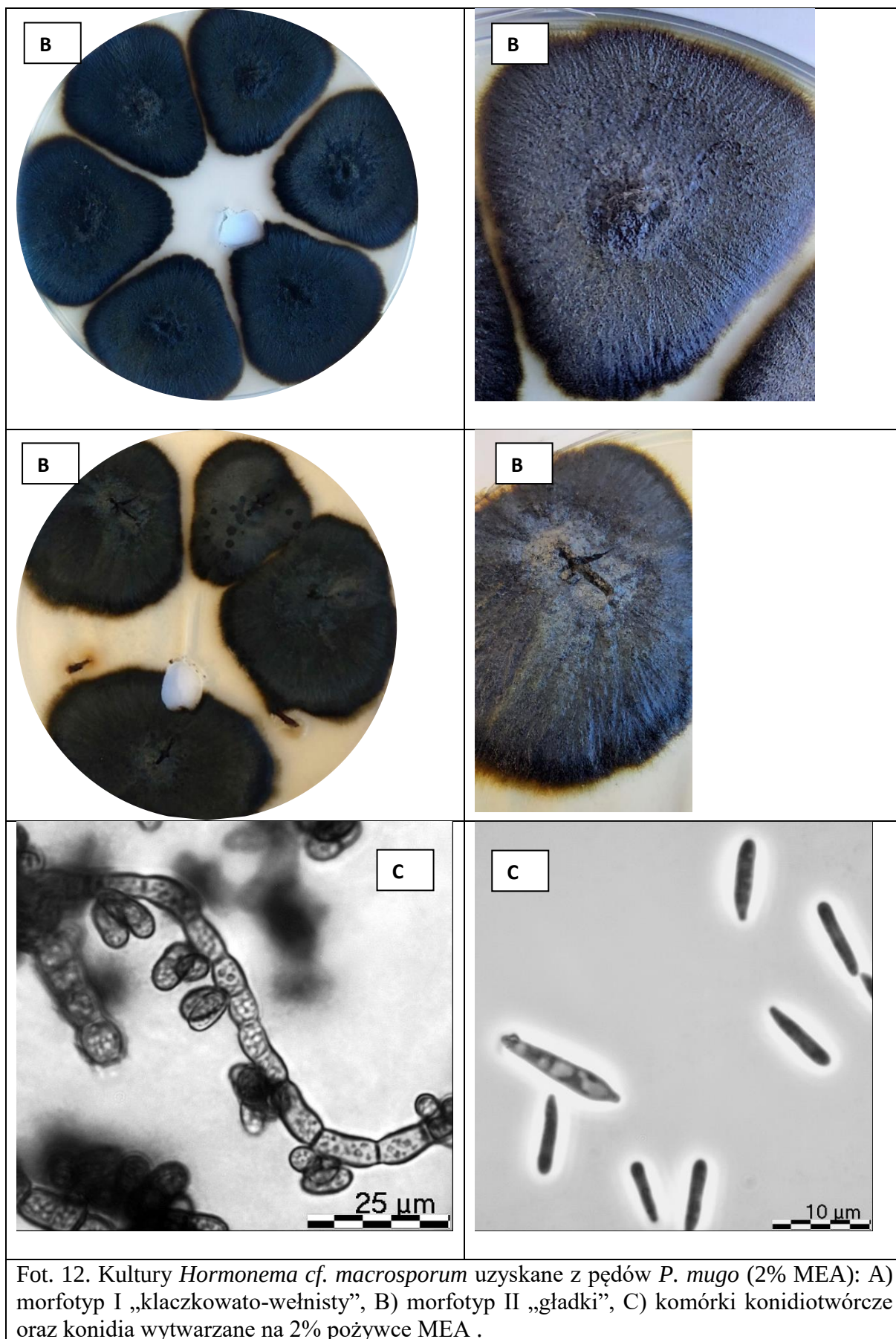


Fot. 11. Kultury *Cytospora* sp. uzyskane z pędu *P. mugo* (2% MEA).

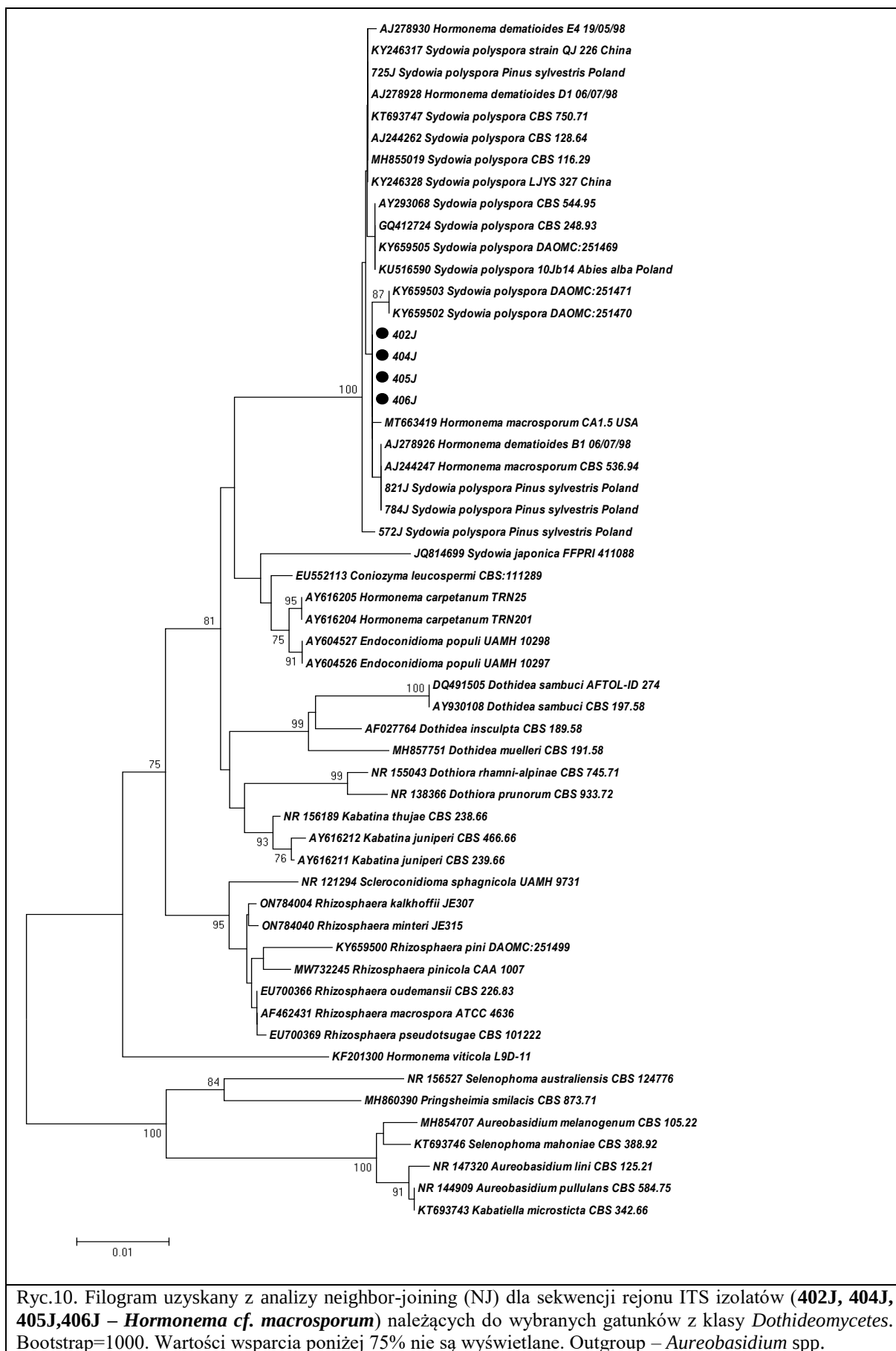
Hormonema cf. *macrosporum* wyizolowano ze 142 pędów (89,9%). Grzyb ten najczęściej zasiedlał rdzeń pędów oraz nasadę igieł odpowiednio na 86,3% i 83,1% pędów.

Natomiast około dwukrotnie rzadziej (46,3% pędów) izolowano ten gatunek z części obwodowych pędu. *H. cf. macrosporum* zasiedlał wszystkie badane pędy zdrowe oraz 70,3 % pędów z zamarłymi wierzchołkami. Grzyb ten na 2% pożywce MEA wytwarzał dwie formy fenotypowe grzybni (Fot.12). Pierwsza miała strukturę „kłaczkowato-wełnistą”, zaś druga „gładką”. Jedynie grzybnia „gładka” wytwarzała obficie zarodniki konidialne w kulturach (Fot. 12 B).





Analiza filogenetyczna sekwencji ITS wykazała, że izolaty te są najbardziej spokrewnione z sekwencjami *Hormonema macrosporum*, które zostały uzyskane z nasion i szyszek *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* w USA (podobieństwo 99,8% do izolatu CA1.5). Analiza filogenetyczna do której dołączono izolaty *Sydowia polyspora*=*Hormonema dematioides* uzyskane z *P. sylvestris* z Polski wykazały, że prawdopodobnie są to dwa różne gatunki (Ryc. 10). Poza tym kultury *Hormonema* cf. *macrosporum* wytwarzały znacznie większe konidia niż *H. dematioides*, ale mniejsze niż *H. macrosporum*. Nie można wykluczyć, że *H. cf. macrosporum* reprezentuje nowy dla nauki gatunek. W tym celu należy przeprowadzić dalsze badania morfologiczne i filogenetyczne.

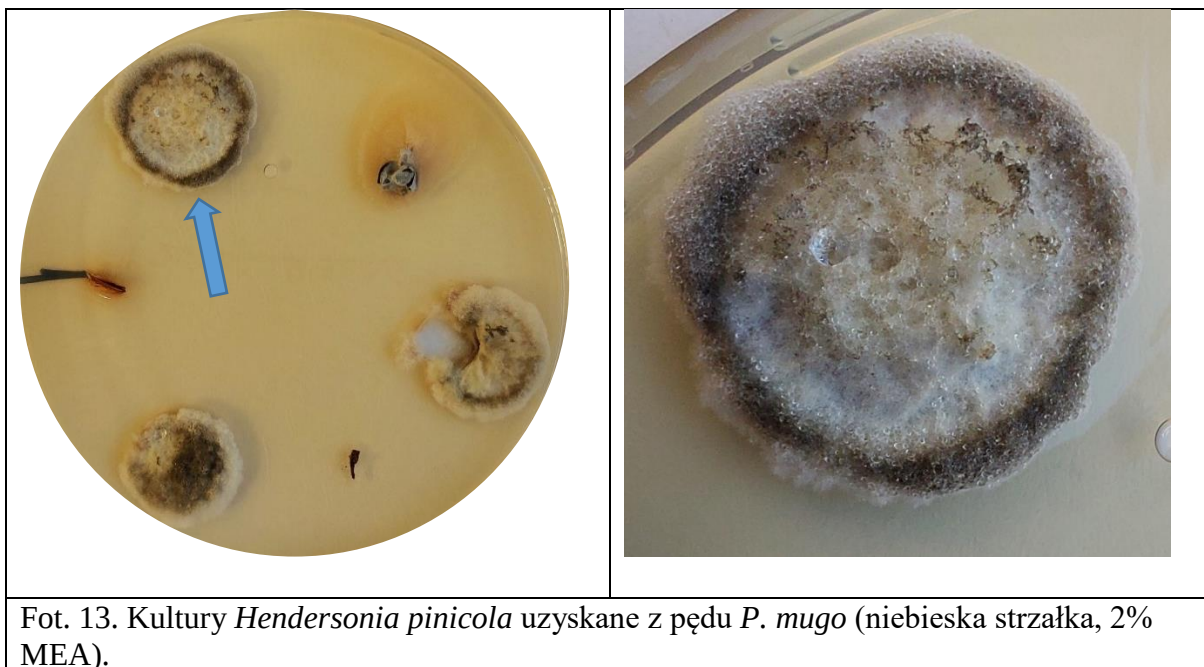


Ryc.10. Filogram uzyskany z analizy neighbor-joining (NJ) dla sekwencji regionu ITS izolatów (**402J, 404J, 405J, 406J** – *Hormonema cf. macrosporum*) należących do wybranych gatunków z klasy *Dothideomycetes*. Bootstrap=1000. Wartości wsparcia poniżej 75% nie są wyświetlane. Outgroup – *Aureobasidium* spp.

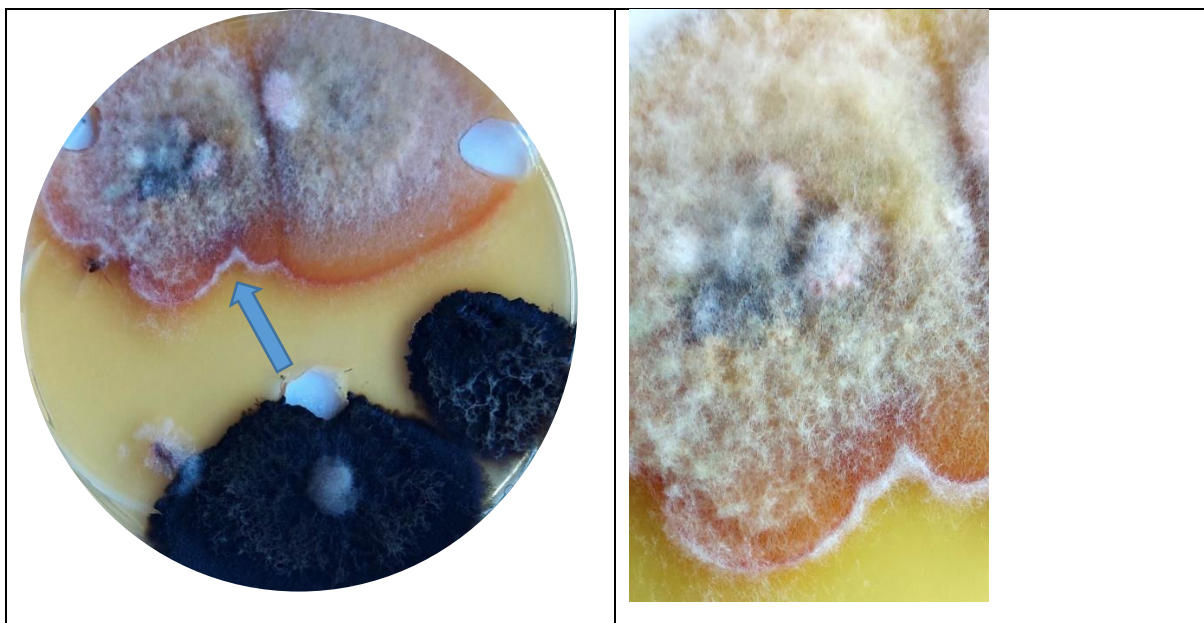
Drugim w kolejności częstości zasiedlania pędów był grzyb *Lachnellula calyciformis*. Jego obecność stwierdzono tylko na pędach z objawami zamierania i były one zasiedlane przez niego w 38,1%. Biorąc pod uwagę jego miejsce występowania, najczęściej izolowano go z części rdzeniowej i obwodowej z 28,5% pędów oraz z 36,4% pędów z nasady igieł.

Mollisia s. lato została wyizolowana z 37 pędów (23,4%) i była trzecim najczęściej zasiedlającym pędy grzybem. Była ona równie często izolowana z pędów bez objawów chorobowych oraz z pędów z objawami zamierania odpowiednio z 22,5% i 22,9%.

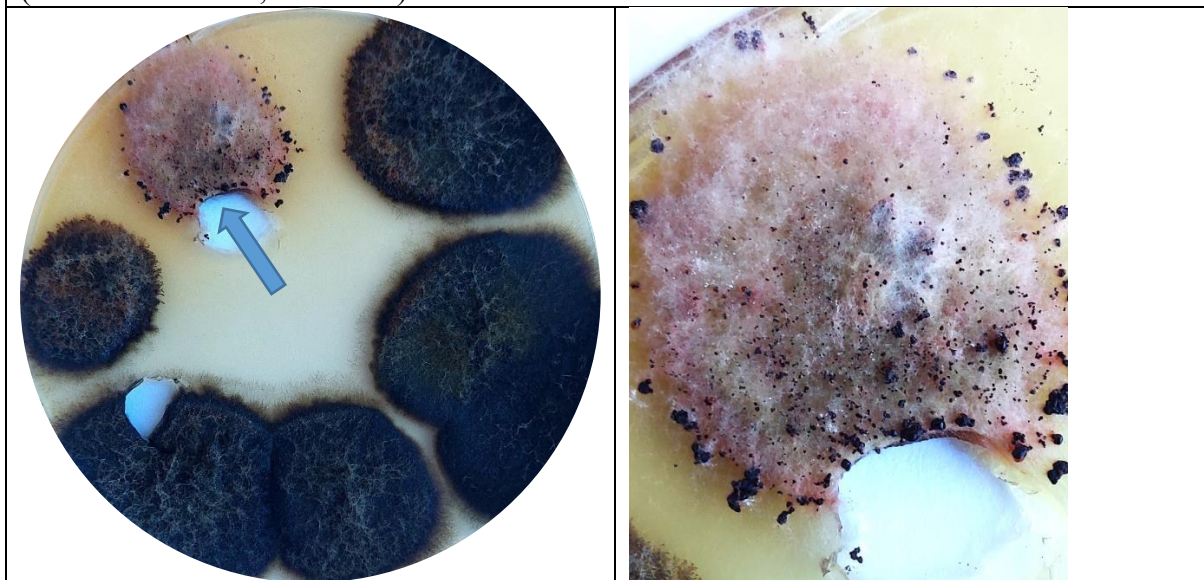
Kolejnym czwartym gatunkiem najczęściej izolowanym była *Hendersonia pinicola* zasiedlając 18,4% pędów i występująca głównie w nasadach igieł. Była ona izolowana z 5% pędów bez objawów chorobowych oraz z 22,9% pędów z objawami zamierania. Grzyb ten wytwarzała na 2% pożywce MEA bardzo charakterystyczne jasno-kawowe kultury (Fot. 13).



Następne 4 najczęstsze taksony: *Agaricales* sp.1, *Lophodermium corconticum*, *Epicoccum nigrum* oraz *Tympanis* sp. zasiedlały odpowiednio 13,3%, 12%, 10,1% i 9,5% pędów. Pierwszy z wymienionych gatunków 2-krotnie częściej zasiedlał pędy zdrowe, natomiast *L. corconticum* występował tylko na pędach z objawami zamierania. Z kolei *E. nigrum* występował nieco częściej na pędach chorych, a *Tympanis* sp. stwierdzono tylko na zamierających pędach. Oprócz *E. nigrum* na pędach *P. mugo* stwierdzono jeszcze dwa inne gatunki z tego rodzaju: *E. italicum* i *Epicoccum* sp. Wszystkie gatunki z rodzaju *Epicoccum* wytwarzały na 2% pożywce MEA szaro-pomarańczowe kultury (Fot. 14, 15).



Fot. 14. Kultury *Epicoccum nigrum* (ex-type of *E.mezzettii*) uzyskane z pędu *P. mugo* (niebieska strzałka, 2% MEA).



Fot. 15. Kultura *Epicoccum* sp. uzyskana z pędu *P. mugo* (niebieska strzałka, 2% MEA).

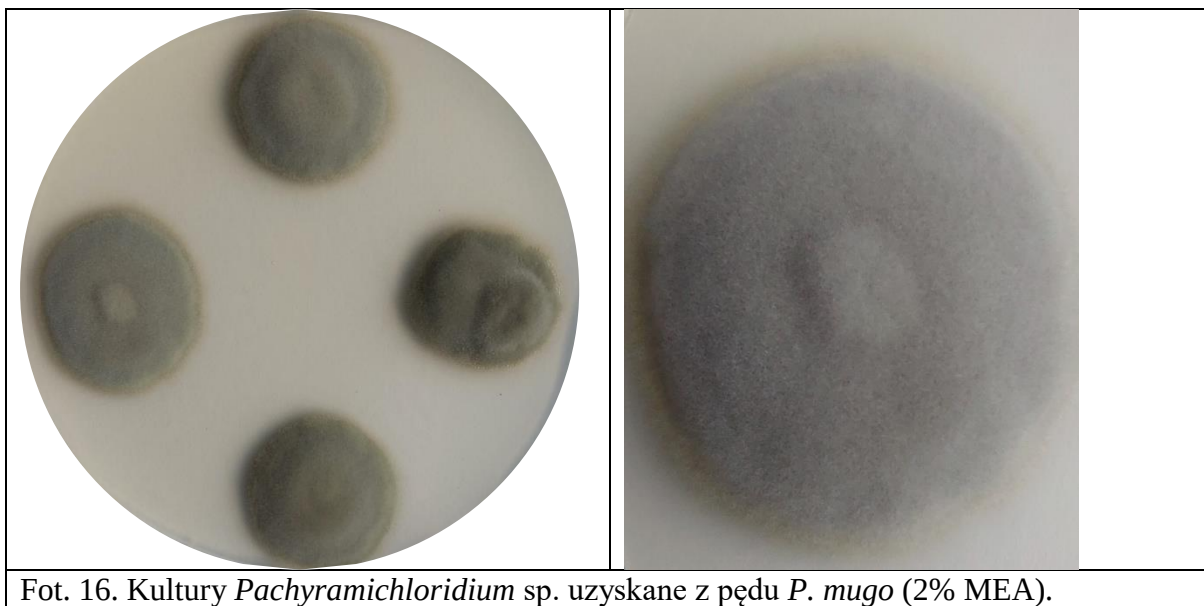
Z tkanek chorych pędów (a+b) wyizolowano 77 taksonów grzybów, a z tkanek zdrowych 22 taksony a łącznie z obu typów pędów 87 taksonów. Tylko 10 taksonów wyizolowanych z chorych pędów zasiedlały je powyżej 5%. Należały do nich przede wszystkim: *Hormonema cf. macrosporum* (70,3%), *Lachnellula calyciformis* (38,1%), *Mollisia s. lato* (12,7%), *Tympanis* sp. (11,9%), *Epicoccum nigrum* (10,2%), *Lophium mytilinum* (6,8%), *Cytospora* sp. (5,9%), *Soosiella* sp. (5,9%), *Cladosporium* sp.1 i *Hendersonia pinicola* (5,1%). Natomiast na pędach bez objawów chorobowych stwierdzono tylko 5 taksonów, które występowały na powyżej 5%

badanych pędów. Należały do nich: *H. cf. macrosporum* (100%), *Mollisia s. lato* (12,5%), *E. nigrum* (7,5%), *Infundichalara* sp. (7,5%), *Epicoccum* sp. (7,5%).

Z nasady igieł wyizolowano ogółem 83 taksony, w tym z pędów z objawami chorobowymi – 66 taksonów i z pędów bezobjawowych – 36 taksonów. Tylko 14 taksonów zasiedlało powyżej 5% chorych pędów. Należały do nich między innymi: *H. cf. macrosporum* (69,5%), *Hendersonia pinicola* (22%), *Lophodermium corconticum* (16,1%), *L. calyciformis* (15,3%), *Agaricales* sp. 1 (10,2%), *Leptomelanconium allescheri* i *Xylaria longipes* (7,6%). Z kolei 15 taksonów wyizolowanych z nasady igieł pędów bezobjawowych zasiedlało je powyżej 5%. Należały do nich przede wszystkim takie gatunki jak: *H. cf. macrosporum* (90%), *Agaricales* sp. 1 (22,5%), *Biscogniauxia nummularia* i *Mollisia s. lato* (17,5%), *Nemania* sp. 1 i *Nigrospora gorlenkoana* (10%).

Spośród wszystkich wyizolowanych 128 taksonów z 158 pędów tylko 44 z nich występowało zarówno w tkance pędów jak i u nasady igieł. Natomiast w pędach z objawami zamierania takich taksonów było 34 i należały do nich przede wszystkim: *H. cf. macrosporum* (na 68,6% pędów), *Lachnellula calyciformis* (15,3%), *Mollisia s. lato* (12,7%) *Hendersonia pinicola* (5,1%) i *Tympanis* sp. (1,7% pędów). Pozostałe taksony zasiedlały poniżej 1% pędów. Natomiast 45 taksonów występowało tylko w tkance pędów, a nie występowało w nasadzie igieł. Do częściej występujących należały: *Soosiella* sp. (5,9% pędów), *Cladosporium* sp. 1 (5,1%) i *Lachnellula hyaline* (4,2%). Z kolei tylko z nasady igieł wyizolowano 41 taksonów, w tym z pędów zamierających 32 taksony a wśród nich najczęściej zasiedlały pędy *Agaricales* sp. 1 (10,2%), *Lophodermium conigenum* (5,2%), *Cladosporium* sp. 2 (4,2%) i *Coniochaeta velutina* (3,4%).

Z szyszek z objawami przebarwień w części wewnętrznej wyizolowano 7 taksonów: *Pachyramichloridium* sp., *H. cf. macrosporum*, *Cladosporium* sp. 2, *Epicoccum nigrum*, *Penicillium* sp. 3, *Trichoderma viridescens* i *Trichoderma viride*. Tylko 2 pierwsze gatunki były izolowane często odpowiednio z 50% i 44,1% badanych szyszek. Z kolei z szyszek bez objawów przebarwień wyizolowano 3 taksony: *Epicoccum nigrum* (33,3%), *H. cf. macrosporum* i *Pachyramichloridium* sp. z 16,7% analizowanych szyszek. Grzyb *Pachyramichloridium* sp. na 2% pożywcze wytwarzał bardzo charakterystyczne szare kultury (Fot. 16)



Fot. 16. Kultury *Pachyramichloridium* sp. uzyskane z pędu *P. mugo* (2% MEA).

Spośród 130 taksonów wyizolowanych z pędów, ponad połowa z nich była lub mogła być okazjonalnie patogenami roślin. Należały do nich m.in. *Biscogniauxia mediterranea*, różne gatunki z rodzaju *Lachnellula* i *Mollisia* oraz *Tympanis*, *Herpotrichia juniper*, a przede wszystkim *H.cf. macrosporum* (Tab. 5).

Tab. 5. Stanowiska troficzne grzybów i liczba reprezentujących ich gatunków.

Stanowisko troficzne	Liczba gatunków	Stanowisko troficzne	Liczba gatunków	Stanowisko troficzne	Liczba gatunków
Ek/Sg	1	Pm	1	Sg	2
El/ Sś	1	Pm/El	3	Sg/Ek	1
El/P?	2	Pp	3	So	1
En/P	2	S	14	Sś	8
P	9	S/El	7	Sś/P	4
P/El	2	S/P	1	Sś/El/P	1
P/S	31	S/Sś	1		
P/Sś	23	S/Sś/Sg/P	1		

Objaśnienia do tabeli 5: * Status troficzny: S - saprotrof nieokreślony; El - endofit na liściach; En – endofit; P - patogen roślinny; Pp – pasożyt porostowy; Sś - saprotrof na ściółce; Sg - saprotrof glebowy; S - saprotrof drzewny; Ek - endofit korzeniowy; Pm – mykopasożyt; So - saprotrof na odchodach

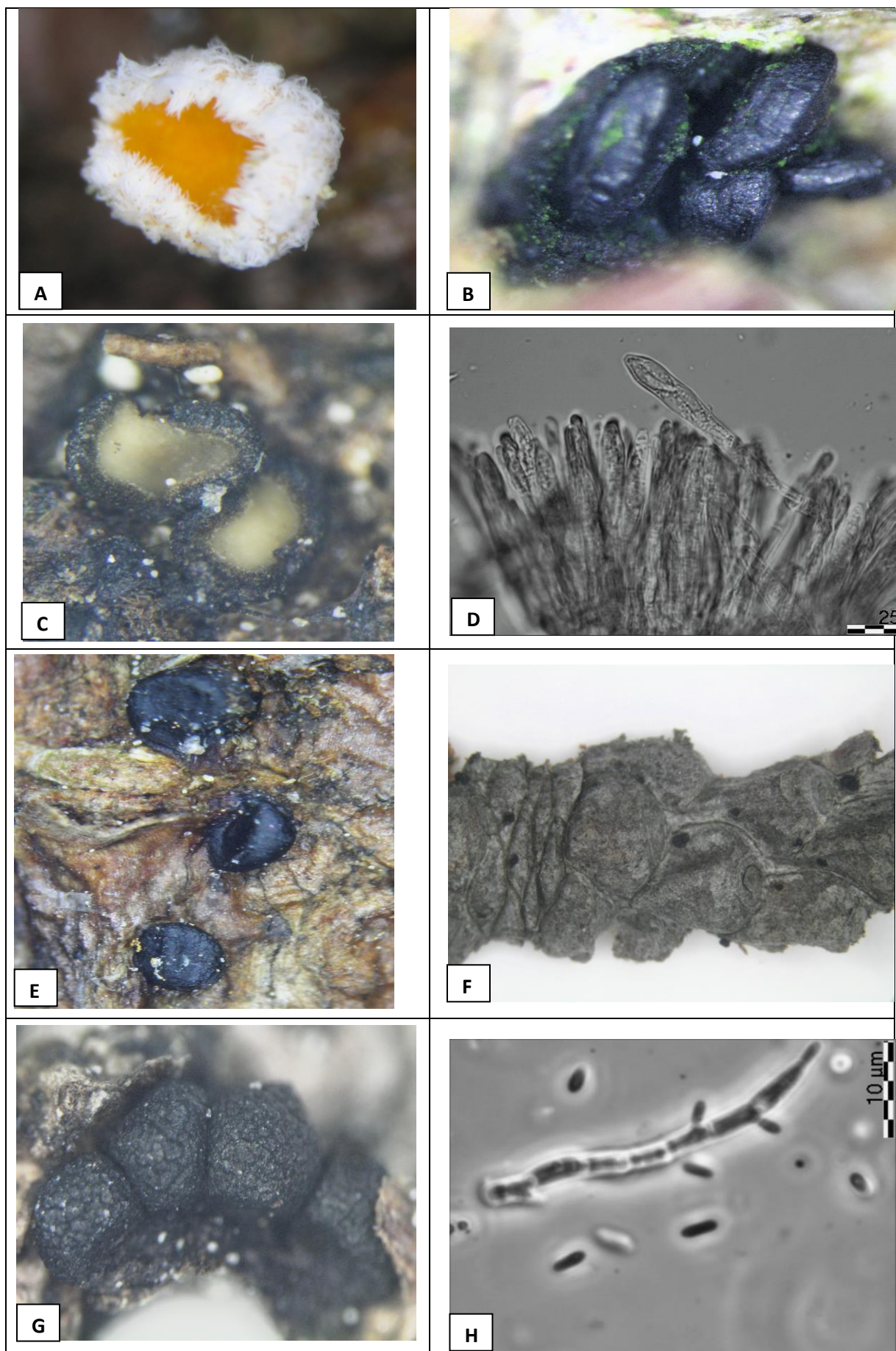
Z kolei 20 gatunków miało w większym lub mniejszym stopniu charakter endofityczny. Natomiast typowych saprotrofów było tylko 14 taksonów.

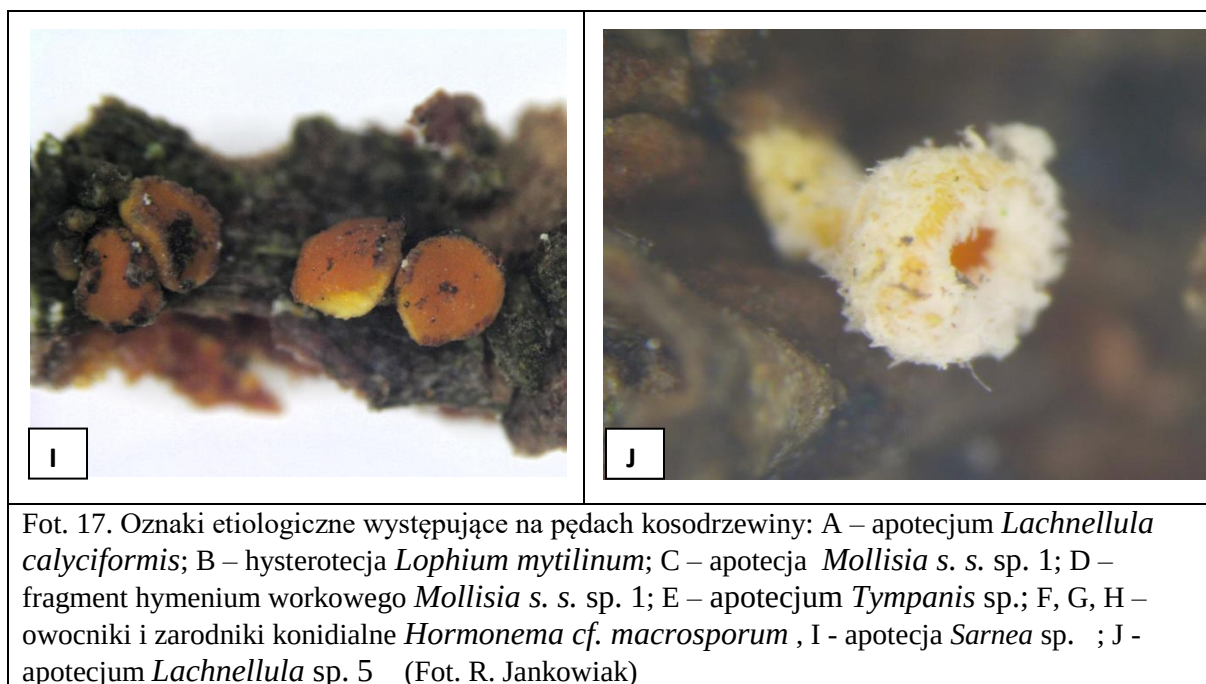
3.2.2 Oznaki etiologiczne występujące na zamarłych pędach

Pod kątem obecności oznak etiologicznych przeanalizowano 88 pędów z objawami zamierania bądź zamarłych i 33 z nich stwierdzono obecność oznak etiologicznych (48,4%) (Tab. 6). Najwięcej oznak etiologicznych stwierdzono na powierzchni II i IV (70% pędów z oznakami etiologicznymi), a najmniej na powierzchni III (19,6%). Na podstawie oznak etiologicznych i badań genetycznych stwierdzono obecność apotecji *Lachnellula calyciformis* (Fot. 17A), *Mollisia* s. s. sp. 1 (Fot. 17C), *Tympanis* sp. (Fot. 17E) i *Sarnea* sp. (Fot. 17I). Grzyby wytwarzające apotecja zasiedlały od 14,3% (pow. II) do 44% (pow. III) pędów z oznakami etiologicznymi.

Tab. 6. Występowanie oznak etiologicznych na zamarłych pędach.

	Powierzchnia I	Powierzchnia II	Powierzchnia III	Powierzchnia IV	
Pędy z objawami	liczba/średnia	liczba/średnia	liczba/średnia	liczba/średnia	Ogółem
Pędy z oznakami etiologicznymi	5	7	9	12	33
% pędów z oznakami etiologicznymi	33,3	70,0	19,6	70,6	48,4
Z apotecjami	1	1	4	5	11
% z apotecjami	20,0	14,3	44,4	41,7	33,3
Inne oznaki	4	6	5	7	
% z innymi oznakami	80,0	85,7	55,6	58,3	





Fot. 17. Oznaki etiologiczne występujące na pędach kosodrzewiny: A – apotecjum *Lachnellula calyciformis*; B – hysteroecja *Lophium mytilinum*; C – apotecja *Mollisia s. s. sp. 1*; D – fragment hymenium workowego *Mollisia s. s. sp. 1*; E – apotecjum *Tympanis sp.*; F, G, H – owocniki i zarodniki konidialne *Hormonema cf. macrosporum*, I - apotecja *Sarnea sp.*; J - apotecjum *Lachnellula sp. 5* (Fot. R. Jankowiak)

3.3. Charakterystyka objawów zewnętrznych i wewnętrznych na zamierających pędach *Pinus mugo* oraz mykobiota im towarzysząca

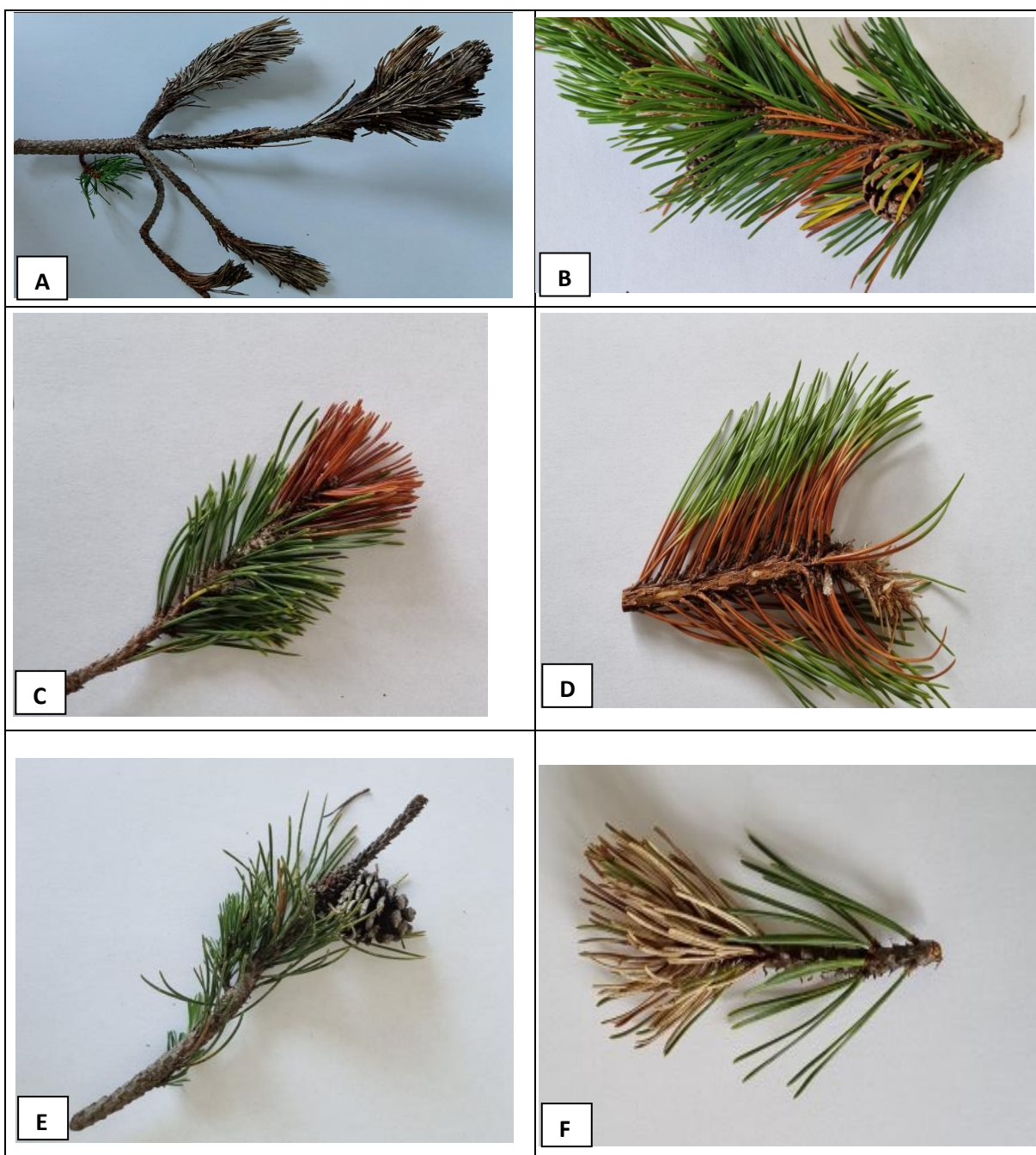
Szczegółowa analiza symptomów chorobowych na pędach pozwoliła na wyróżnienie 10 typów objawów (Tab. 7, Fot. 18 A-J). Najczęściej występował objaw zamierania wierzchołku pędu z przebarwionymi na czerwono-brązowo igłami. Objaw ten wystąpił na 37 pędach (31,4%) wszystkich analizowanych pędów. Ten typ objawu występował na powierzchni I i IV i był nieobecny na powierzchni II. Również stosunkowo licznie występowały objawy typu B (w środkowym odcinku pędu widoczne przeżywienie, przebarwione igły, wierzchołek i dolna część pędu z zielonymi igłami) i E (zamarłe wierzchołki pędów bez igieł), odpowiednio na 18 i 19 pędach, przy czym najliczniej objaw B występował na powierzchni II, a objaw E na powierzchni II i IV. Niektóre z objawów występowały tylko na jednej powierzchni, tak jak objaw A (pow. I), H (pow. I) czy J (pow. III).

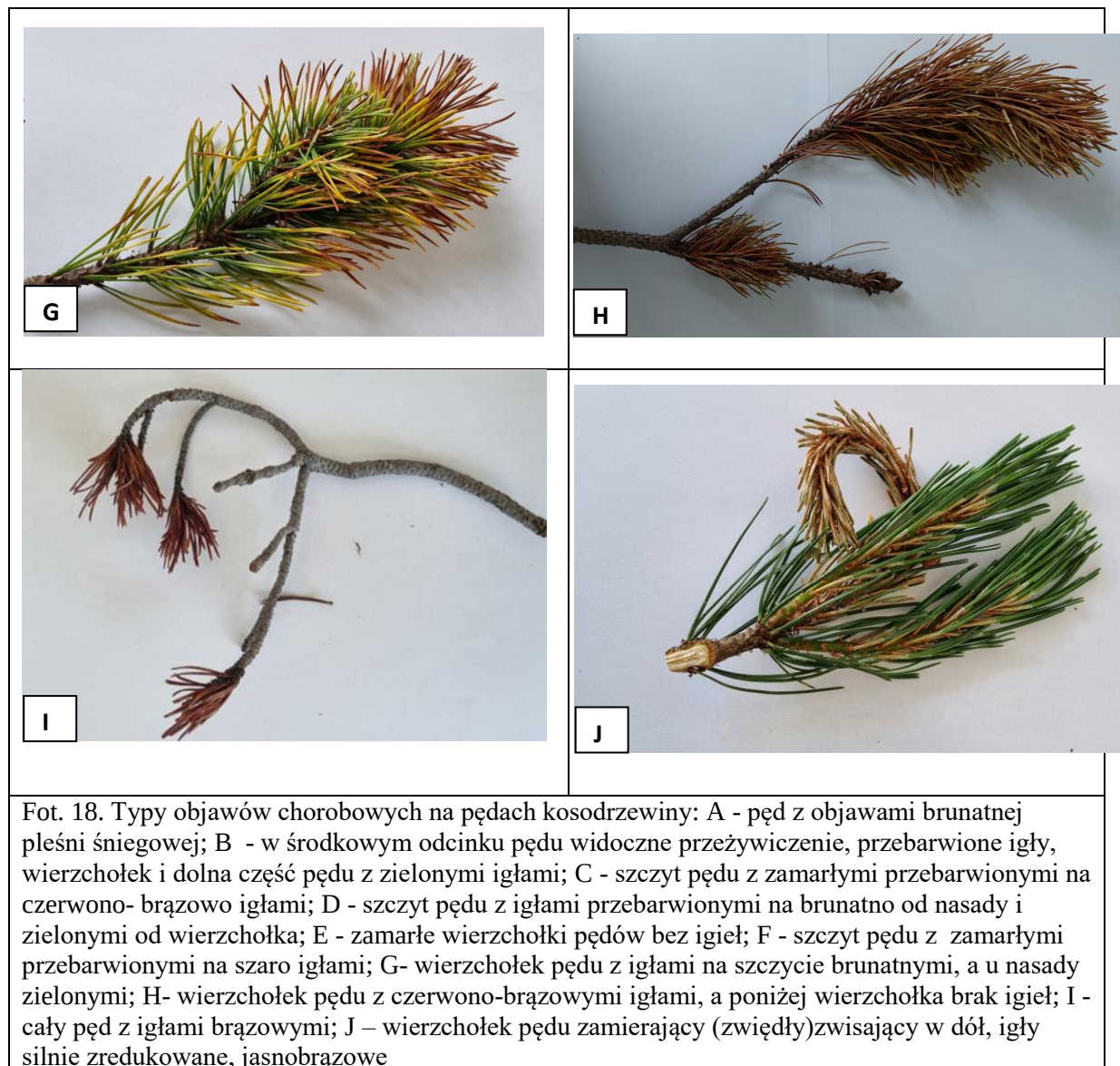
Tab. 7. Charakterystyka i częstotliwość występowania symptomów chorobowych na poszczególnych powierzchniach badawczych

Typ symptomu zewnętrznego	Liczba pędów ogółem	I		II		III		IV	
		Liczba	%	Liczba	%	Liczba	%	Liczba	%
A - pędy z objawami brunatnej pleśni śniegowej	9	9	100						
B - w środkowym odcinku pędu widoczne przeżywienie, przebarwione igły, wierzchołek i dolna część pędu z zielonymi igłami	17	1	5,9	8	47,1	2	11,8	6	35,3
B+B/C	18	1	5,6	8	44,4	3	16,7	6	33,3
C - szczyt pędu z zamarłymi przebarwionymi na czerwono-brązowo igłami	33	15	45,5			7	21,2	11	33,3
C+C/B,C/F,C/G	37	17	45,9			8	21,6	12	32,4
D - szczyt pędu z igłami przebarwionymi	6	1	16,7			5	83,3		

na brunatno od nasady i zielonymi od wierzchołka									
E - zmarłe wierzchołki pędów bez igieł	19	1	5,3	7	36,8	4	21,1	7	36,8
F - szczyt pędu z zmarłymi przebarwionymi na szaro igłami	13	2	15,4	10	76,9			1	7,7
F+F/C	14	3	21,4	10	71,4			1	7,1
G - wierzchołek pędu z igłami na szczycie brunatnymi, a u nasady zielonymi	5			1	20	4	80		
G+G/C	6	1	16,7	1	16,7	4	66,7		
H - wierzchołek pędu z czerwono-brązowymi igłami, a poniżej wierzchołka brak igieł	3	3	100						
I - cały pęd z igłami brązowymi	5	3	60			2	40		
J – wierzchołek pędu zamierający (zwiędły) zwisający w dół, igły silnie zredukowane, jasnobrązowe	4					4	100		

K - brak symptomu	40	10	25	10	25	10	25	10	25
Ogółem liczba pędów	158	46	29,1	37	23,4	39	24,7	36	22, 8







Fot. 19. Objawy brunatnej pleśni śniegowej: A- widok zaatakowanych całych drzewek; B- widok pędów zabitych przez grzybnie *Herpotrichia juniperi*

Tylko na powierzchni nr I stwierdzono kosodrzewinę porażoną przez brunatną pleśń śniegową (Fot. 19 A, B). W niektórych miejscach przyczyniła się ona do zamierania całych drzewek, a nawet kęp. Było to szczególnie widoczne w zagłębieniach terenu, w miejscach gdzie długo zalegała pokrywa śnieżna.

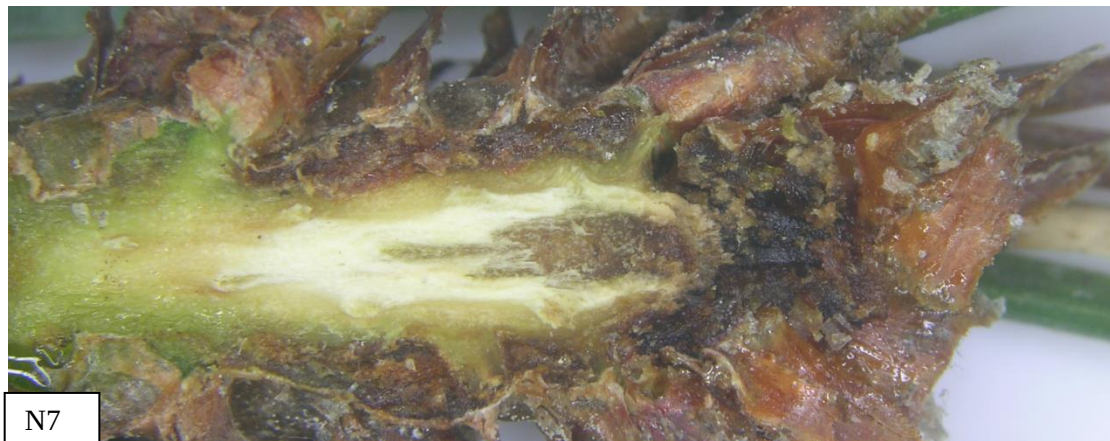
Wyróżniono 9 typów objawów chorobowych wewnątrz pędu (Tab. 8), (Fot. 20 N1-N9) . Najczęstszym objawem wewnątrz pędów była nekroza całkowita w części wierzchołkowej pędu, poniżej zdrowa tkanka (N3), która wystąpiła w 48 pędach (40,7%). Również z tego typu nekrozy wyizolowano największą liczbę taksonów (65). Ten typ nekrozy był obecny na wszystkich powierzchniach i prawie we wszystkich typach objawu zewnętrznego. Drugim i trzecim w kolejności najczęstszym objawem była nekroza typu N2 (wierzchołek pędu zdrowy, w środkowej części pędu najpierw nekroza w samym rdzeniu, a poniżej również w tkance pod skórą) oraz N6 (nekroza całkowita w części wierzchołkowej pędu, poniżej nekroza tkanek pod skórą i w rdzeniu) i występowały one odpowiednio na 21,2% i 16,9% pędów, oraz zasiedlały te pędy odpowiednio 31 i 43 taksony. Spośród 40 pędów bez widocznych objawów

zamierania, na 5 z nich (12,5%) stwierdzono obecność pojedynczych, niewielkich nekroz wzdłuż tych pędów. Wskazuje to na rozpoczęcie się procesu chorobowego na pędach bezobjawowych.

Tab. 8. Charakter objawu chorobowego wewnętrznego, występującego w badanych pędach kosodrzewiny

Typ objawu wewnętrznego i jego symbol	Liczba pędów	% pędów	Typ objawu zewnętrznego	Liczba taksonów grzybów	Powierzchnia
Nekroza całkowita w części wierzchołkowej pędu, poniżej nekroza tkanek pod skórą i w rdzeniu – N6	20	16,9	A, B, C, D, H, I, J	43	I, III
Nekroza całkowita w części wierzchołkowej pędu, poniżej przebarwienie w rdzeniu –N1	16	13,6	C, D, E, F	28	I, II, III
Nekroza całkowita w części wierzchołkowej pędu, poniżej przebarwienie w rdzeniu, w drugiej połowie pędu nekroza tkanek pod skórą i w rdzeniu –N5	1	0,8	E	2	II
Nekroza całkowita w części wierzchołkowej pędu, poniżej zdrowa tkanka –N3	48	40,7	A, B, B/C, C, C/F, C/G, D, E, F, G, J	65	I, II, III, IV
Nekroza boczna w części wierzchołkowej pod skórą i w rdzeniu –N7	3	2,5	F, G	11	II, III
Nekroza całkowita na prawie całym pędzie –N4	3	2,5	B, E, G	8	II
Nekroza całkowita na prawie całym pędzie, rdzeń szedł –N9	1	0,8	E	3	III
Wierzchołek pędu zdrowy, w środkowej części pędu najpierw nekroza w samym rdzeniu, a poniżej również w tkance pod skórą –N2	25	21,2	B, C, C/B, D, E, G, I, K	31	I, II, III, IV
Wierzchołek pędu zdrowy, w środkowej części pędu nekroza tylko w tkance pod skórą –N8	6	5,1	B, G	24	III, IV
Pęd bez symptomów zewnętrznych i wewnętrznych	35	22,2		23	I, II, III, IV







N8



N9



Fot. 20. Objawy chorobowe wewnątrz pędów kosodrzewiny: N1 - nekroza całkowita w części wierzchołkowej pędu, poniżej przebarwienie w rdzeniu; N2 - wierzchołek pędu zdrowy, w środkowej części pędu najpierw nekroza w samym rdzeniu, a poniżej również w tkance pod skórą; N3 - nekroza całkowita w części wierzchołkowej pędu, poniżej zdrowa tkanka; N4 - nekroza całkowita na prawie całym pędzie; N5 - nekroza całkowita w części wierzchołkowej pędu, poniżej przebarwienie w rdzeniu, w drugiej połowie pędu nekroza tkanek pod skórą i w rdzeniu; N6 - nekroza całkowita w części wierzchołkowej pędu, poniżej nekroza tkanek pod skórą i w rdzeniu; N7 - nekroza boczna w części wierzchołkowej pod skórą i w rdzeniu; N8 - wierzchołek pędu zdrowy, w środkowej części pędu nekroza tylko w tkance pod skórą; N9 - nekroza całkowita na prawie całym pędzie, rdzeń szary; Sz1 - szyszka z nekrozą w części rdzeniowej

Z typu N3 najczęściej izolowano *H. cf. macrosporum* (89,6%), a następnie *L. calyciformis* (43,8%), *Tympanis* sp. (27,1%), *H. pinicola* (22,9%), *Mollisia s. lato* (18%) oraz *L. corconticum* i *E. nigrum* (16,7%) i (14,6%). Z nekrozy typu N2 najczęściej izolowano *H. cf. macrosporum*, *L. calyciformis*, *C. nivea*, *Mollisia s. lato* i *Mollisia s.s.sp.2* odpowiednio z 56%; 28%; 25%; 24% i 16% pędów z tym objawem. Z objawu wewnętrznego typu N6 z 90% pędów z tym objawem izolowano *H. cf. macrosporum*, 45% *L. calyciformis*, z 35% *Cytospora* sp. i z 20% *H. piniola* (Tab. 9).

Tab. 9. Typy symptomów chorobowych wewnątrz pędów i grzyby im towarzyszące

Nazwa grzyba	N1			N2			N3			N4			N5			N6			N7			N8			N9		
	Liczba pędów	% pędów	Typ objawów zewnętrznych	Liczba pędów	% pędów	Typ objawów zewnętrznych	Liczba pędów	% pędów	Typ objawów zewnętrznych	Liczba pędów	% pędów	Typ objawów zewnętrznych	Liczba pędów	% pędów	Typ objawów zewnętrznych	Liczba pędów	% pędów	Typ objawów zewnętrznych	Liczba pędów	% pędów	Typ objawów zewnętrznych	Liczba pędów	% pędów	Typ objawów zewnętrznych	Liczba pędów	% pędów	Typ objawów zewnętrznych
<i>Aequabiliella palatina</i>																1	5	H									
<i>Agaricales</i> sp. 1							5	10,4	E, B/C, C,G	2	10	B,G				4	20	B,C,I,J									
<i>Allantophomopsis pseudotsugae</i>							1	2,1	F																		
<i>Allantophomopsis cytispora</i>	1	6,3	F	1	4	I																					
<i>Allantophomopsis lunata</i>	1	6,3	F																								
<i>Allantophomopsis</i> sp. 2	1	6,3	C				1	2,1	C/F																		
<i>Allantophomopsis</i> sp. 3	2	13	C																			1	16,7	G			
<i>Alternaria alternata</i>							1	2,1	C/F																		
<i>Alternaria murispora</i>							1	2,1	F																		
<i>Alternaria</i> sp.																2	10	B,C	1	33,3	G						
<i>Apiospora arundinis</i>							1	2,1	F																		
<i>Ascomycota</i>	1	6,3	C													1	5	I									

<i>Coniochaeta nivea</i>	4	25	C,E	1	25	B	2	4,2	C,E							2	10	D,H									
<i>Coniochaeta</i> sp. 3				1	4	B	1	2,1	C																		
<i>Coniochaeta</i> sp.2							3	6,3	C,E,J							3	15	J				3	50	B			
<i>Coniochaeta velutina</i>				1	4	B	3	6,3	D,E, F																		
<i>Coprinellus micaceus</i>	1	6,3	E																								
<i>Cytospora</i> sp.																7	35	A,H,I									
<i>Daldinia loculata</i>							1	2,1	E																		
<i>Dermea</i> sp.				1	4	I																					
<i>Didymella pinodella</i>										1	33,3	B															
<i>Diplodia sapinea</i>																1	5	H									
<i>Epicoccum italicum</i>				1	4	B																					
<i>Epicoccum nigrum</i> (ex-type of <i>E.mezzettii</i>)	2	13	E	2	8	B,G	7	14, 6	B,C, F,C/ G,J							1	5	I									
<i>Epicoccum</i> sp.	1	6,3	C	1	4	B																					
<i>Epithamnolia</i> sp.										2	66,7	B,E										1	16, 7	B			
<i>Fusarium</i> sp.							1	2,1	C																		
<i>Gyromitra infula</i>							1	2,1	E				1	100	E												
<i>Helotiales</i>							1	2,1	C																		
<i>Hendersonia pinicola</i>	6	38	C,E,F				11	22, 9	B,C, E F, G	2	66,7	E,G				5	25	A,C,I	1	33, 3	F						

<i>Herpotrichia juniperi</i>	1	6,3	C	1	4	C	1	2,1	C/G							3	15	A,I				1	16,7	B			
<i>Hormonema</i> cf. <i>macrosporum</i>	14	88	C,D,E,F	14	56	B,C,G,K(10)	43	89,6	B,B/C,C,F,C/G,D,E,F,G,J	1	33,3	B				18	90	A,B,C,D,H,I,J	1	33,3	G	6	100	B,G	1	100	E
<i>Hyalodendriella</i> sp.							1	2,1	C/F																		
<i>Hypoxylon fragiforme</i>																1	5	A									
<i>Infundichalara</i> sp.	1	6,3	C	2	8	K	3	6,3	C,E,G							1	5	A									
<i>Jackrogersella cohaerens</i>	1	6,3	C																								
<i>Jugulospora rotula</i>							1	2,1	C																		
<i>Lachnellula calyciformis</i>	7	44	C,E	7	28	B,C,G,I	21	43,8	A,B,C,E,F,C/G	2	66,7	B,G	1	100	E	9	45	A,B,C,I	1	33,3	F	2	33,3	B,G			
<i>Lachnellula hyaline</i>	2	13	E				1	2,1	E							2	10	A									
<i>Lachnellula</i> sp. 1							1	2,1	C							1	5	A									
<i>Lachnellula</i> sp. 2							1	2,1	C																		
<i>Lachnellula</i> sp. 3				1	4	B																					
<i>Lachnellula</i> sp. 4							1	2,1	C																		
<i>Lachnellula</i> sp. 5							1	2,1	C																		
<i>Leptomelanconium allescheri</i>	5	31	C,E,F				1	2,1	C							3	15	B,C,D							1	100	E

<i>Lophium mytilinum</i>	1	6,3					5	10,4	B,C,F									1	33,3	F	1	16,7				
<i>Lophium</i> sp. 1															2	10	I									
<i>Lophium</i> sp. 2																		2	66,7	F						
<i>Lophium</i> sp. 3	1	6,3	C				2	4,2	C						1	5	I	1	33,3	F	1	16,7				
<i>Lophodermium conigenum</i>	1	6,3	C	1	4	G	3	6,3	C,F						1	5	I									
<i>Lophodermium corconticum</i>				4	16	C,D,G,I	8	16,7	B/C,C,E						2	10	A,C	1	33,3	G	1	16,7	B	1	100	E
<i>Lophodermium</i> sp. 1				1	4	B									1	5	I									
<i>Lophodermium</i> sp. 2				1	4	B															1	16,7	B			
<i>Massarinaceae</i>							2	4,2	J						1	5	J									
<i>Micraspidaceae</i>				1	4	B	4	8,3	C,G																	
<i>Microsphaeropsis olivacea</i>							3	6,3	B,C,G												1	16,7	B			
<i>Moellerodiscus</i> sp.				2	8	B,C															1	16,7	B			
<i>Mollisia s. lato</i>				6	24	B,C,I	9	18	A,C,D,F	1	33,3	E			3	15	A,I									
<i>Mollisia s. s. sp. 2</i>				4	16	C,D,E																				
<i>Mollisia s. s. sp. 3</i>							1	2,1																		
<i>Mollisia s. s. sp. 4</i>				1	4	E																				
<i>Mollisia s. s. sp. 6</i>							1	2,1	C																	
<i>Mollisia s. s. sp. 7</i>							1	2,1	C																	

<i>Mollisia s. stricto</i> sp. 1	2	13	C	1	4	G									1	5	A									
<i>Mollisia scopiformis</i>	1	6,3	C												1	5	C									
<i>Nemania diffusa</i>															1	5	I									
<i>Neurospora calospora</i>																				1	16, 7	G				
<i>Nigrospora gorlenkoana</i>							4	8,3	A,C						2	10	A,B	2	66, 7	G,F						
<i>Pachyramichloridium</i> sp.				1	4	B														3	50	B				
<i>Penicillium bialowiezense</i>															1	5										
<i>Penicillium glaucoalbidum</i>				1	4	C																				
<i>Penicillium</i> sp. 1															1	5										
<i>Peniophora cinerea</i>							1	2,1	C																	
<i>Phacidium</i> sp.							1	2,1	C/F																	
<i>Phaeotheca fissurella</i>							1	2,1	J																	
<i>Phaeothecaceae</i>																										
<i>Phanerochaete sordida</i>							1	2,1	E																	
<i>Phialocephala</i> sp.							2	4,2	C																	
<i>Phomatodes pilosa</i>							2	4,2	C																	
<i>Sirococcus conigenus</i>							1	2,1							1	5										
<i>Soosiella</i> sp.				1	4	C	2	4,2	C,F						2	10	B,C				1	16, 7	B			

<i>Sordaria fimicola</i>							4	8,3	C							2	10	A				1	16,7	B			
<i>Stylonectria hetmanica</i>							1	2,1	F																		
<i>Synnemapestaloides</i> sp.							2	4,2	F							1	5	C				1	16,7	B			
<i>Therrya pini</i>	1	6,3	E													1	5	H									
<i>Therrya</i> sp.1				1	4	I	1	2,1	A																		
<i>Therrya</i> sp.2							1	2,1	A							1	5	A									
<i>Trichoderma parasiluliferum</i>																1	5	A									
<i>Trichoderma viridescens</i>																						2	33,3	B			
<i>Tympanis</i> sp.				1	4	E	13	27,1	B/C, C,E	1	33,3	G															
<i>Variabilispora</i> sp.	1	6,3	E																								
<i>Varicosporium</i> sp.																1	5	A									
<i>Xylaria longipes</i>	2	13	E	1	4	E	4	8,3	B/C, C,E, F										1	33,3	F	1	16,7	B			

3.4. Wpływ wysokości n.p.m. na symptomy chorobowe i skład gatunkowy grzybów zasiedlających zamarłe pędy

Liczebność taksonów różniła się na poszczególnych powierzchniach badawczych i wynosiła od 25 na pow. II do 41 na pow. IV (Tab. 10). Wraz z wysokością n.p.m. zwiększało się nasilenie występowania *H. cf. macrosporum* z 75,7% (pow. II) do 97,2% (pow. IV), *C. decumbens* z 6,5% (pow. I) do 13,95% (pow. IV), *B. nummularia* z 2,2%(pow. I) do 8,3% (pow. IV), *Micraspidaceae* z 2,2% (pow.I) do 11% (pow. IV), *X. longines* z 2,2% (pow. I) do 11,1% (pow. IV), *Coniochaeta* sp.2 z 0%(I) do 13,9% (IV), *Epicoccum* sp. z 0% (I) do 8,3% (IV) i *Pachyramichloridium* sp. z 0% (I, II, III) do 11,1% (IV) (Tab. 11). Liczebność zasiedlanych pędów przez większość stwierdzonych taksonów wyraźnie zmniejszała się wraz z wysokością n.p.m., np.: *L. calyciformis* z 47,8% pędów (I) do 25% (II), *C. acacia* z 24% (I) do 2,8% (IV), *Cytospora* sp. z 15% (I) do 0% (IV). Tylko na powierzchni nr I występowało 16 gatunków, m.in. *Cytospora* sp., *Allantophomopsis* sp. 2, *Lophium* sp. 1, *Therrya* sp.2, *Aequabiliella palatina*, *Allantophomopsis lunata* i *Diplodia sapinea*. Z kolei tylko na najwyższej położonej pow. IV występowało 25 taksonów, które nie były izolowane z pędów na pozostałych powierzchniach. Do tych gatunków należały m.in.: *Athelia* sp. 1, *Cantharellales*, *B. mediterranea*, *B. cf. mediterranea*, *Chaetomium cochliodes*, *Daldinia loculata*, *Mollisia s. s.* sp. 3, *Nemania serpens*, *Pachyramichloridium* sp., *Rosellinia corticium* oraz *Tympanis* sp., który występował licznie na tej powierzchni, a sporadycznie tylko na pow. II i III.

Tab. 10. Liczebność analizowanych pędów i taksonów na powierzchniach badawczych

Liczba i %	Pow. I	Pow. II	Pow. III	Pow. IV
pędy	46	37	39	36
% pędów	29,1	23,4	24,7	22,8
takson	33	25	32	41
% taksonów	25,19	19,08	24,43	31,30

Tab. 11. Skład gatunkowy grzybów oraz % zasiedlonych przez nie pędów na poszczególnych powierzchniach badawczych

Taxon	Powierzchnia nr I		Powierzchnia nr II		Powierzchnia nr III		Powierzchnia nr IV	
	Liczba pędów	% pędów	Liczba pędów	% pędów	Liczba pędów	% pędów	Liczba pędów	% pędów
<i>Agaricales</i> sp. 1	6	13,0	2	5,4	8	20,5	5	13,9
<i>Athelia</i> sp. 1							1	2,8
<i>Athelia</i> sp. 2					1	2,6		
<i>Cantharellales</i>							1	2,8
<i>Coprinellus micaceus</i>			1	2,7	1	2,6		
<i>Peniophora cinerea</i>							1	2,8
<i>Trametes versicolor</i>							2	5,6
<i>Aequabiliella palatina</i>	1	2,2						
<i>Allantophomopsis cytisporea</i>	1	2,2			1	2,6		
<i>Allantophomopsis lunata</i>	1	2,2						
<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i>			1	2,7				
<i>Allantophomopsis</i> sp. 1			1	2,7				
<i>Allantophomopsis</i> sp. 2	2	4,3						
<i>Allantophomopsis</i> sp. 3	1	2,2			2	5,1	1	2,8
<i>Apiospora arundinis</i>			1	2,7				
<i>Ascomycota</i>	2	4,3			2	5,1		
<i>Alternaria alternata</i>	1	2,2			1	2,6	1	2,8
<i>Alternaria murispora</i>			1	2,7				
<i>Alternaria</i> sp.	2	4,3			1	2,6		
<i>Bacilliformis hyalinus</i>	1	2,2					1	2,8
<i>Barrenia</i> sp.	1	2,2						
<i>Biscogniauxia mediterranea</i> (clade E)							1	2,8

<i>Biscogniauxia cf. mediterranea</i>			1	2,7			2	5,6
<i>Biscogniauxia nummularia</i>	1	2,2	2	5,4	3	7,7	3	8,3
<i>Boeremia</i> sp.							1	2,8
<i>Botrytis cinerea</i>	1	2,2					1	2,8
<i>Capturomyces</i> sp.	1	2,2						
<i>Cenangium ferruginosum</i>					1	2,6		
<i>Chaetomium globosum</i>					1	2,6	2	5,6
<i>Chaetomium subglobosum</i>			1	2,7				
<i>Chaetomium cochliodes</i>							1	2,8
<i>Cladosporium</i> sp. 1	2	4,3	1	2,7	1	2,6	3	8,3
<i>Cladosporium</i> sp. 2	1	2,2	2	5,4	1	2,6	1	2,8
<i>Cladosporium</i> sp. 3		0,0		0,0		0,0	1	2,8
<i>Coniochaeta acacia</i>	11	23,9	1	2,7	1	2,6	1	2,8
<i>Coniochaeta decumbens</i>	3	6,5	2	5,4	3	7,7	5	13,9
<i>Coniochaeta nivea</i>	4	8,7	2	5,4	6	15,4		
<i>Coniochaeta velutina</i>	1	2,2	2	5,4			1	2,8
<i>Coniochaeta</i> sp.1							1	2,8
<i>Coniochaeta</i> sp.2			1	2,7	3	7,7	5	13,9
<i>Coniochaeta</i> sp. 3	1	2,2	1	2,7				
<i>Coniochaeta</i> sp. 4			1	2,7				
<i>Coniochaeta</i> sp. 5					1	2,6		
<i>Cytospora</i> sp.	7	15,2						
<i>Daldinia loculata</i>							1	2,8
<i>Dermea</i> sp.					1	2,6		
<i>Didymella pinodella</i>			1	2,7				
<i>Diplodia sapinea</i>	1	2,2						
<i>Epicoccum italicum</i>			1	2,7				

<i>Epicoccum nigrum</i> (ex-type of <i>E. mezzettii</i>)	4	8,7	5	13,5	6	15,4	1	2,8
<i>Epicoccum</i> sp.			1	2,7	1	2,6	3	8,3
<i>Epithamnolia</i> sp.	1	2,2	5	13,5			1	2,8
<i>Fusarium</i> sp.							1	2,8
<i>Gyromitra infula</i>			1	2,7			1	2,8
<i>Hendersonia pinicola</i>	8	17,4	14	37,8	3	7,7	3	8,3
<i>Helotiales</i>							1	2,8
<i>Herpotrichia juniperi</i>	5	10,9			1	2,6	1	2,8
<i>Hormonema</i> cf. <i>macrosporum</i>	41	89,1	28	75,7	37	94,9	35	97,2
<i>Hyalodendriella</i> sp.	1	2,2						
<i>Hypoxylon fragiforme</i>	1	2,2	1	2,7	2	5,1		
<i>Infundichalara</i> sp.	4	8,7	1	2,7	1	2,6	2	5,6
<i>Jackrogersella cohaerens</i>	1	2,2						
<i>Jackrogersella multiformis</i>							1	2,8
<i>Jackrogersella</i> sp.	1	2,2					1	2,8
<i>Jugulospora rotula</i>							1	2,8
<i>Lachnellula calyciformis</i>	22	47,8	15	40,5	8	20,5	9	25,0
<i>Lachnellula hyaline</i>	2	4,3	4	10,8				
<i>Lachnellula</i> sp. 1	1	2,2					1	2,8
<i>Lachnellula</i> sp. 2							1	2,8
<i>Lachnellula</i> sp. 3			1	2,7				
<i>Lachnellula</i> sp. 4					1	2,6		
<i>Lachnellula</i> sp. 5					1	2,6		
<i>Leptomelanconium allescheri</i>	5	10,9			4	10,3	1	2,8
<i>Lophium mytilinum</i>			5	13,5	1	2,6	3	8,3
<i>Lophium</i> sp. 1	2	4,3						
<i>Lophium</i> sp. 2			1	2,7				
<i>Lophium</i> sp. 3			1	2,7	2	5,1	2	5,6
<i>Lophodermium conigenum</i>			1	2,7	3	7,7	2	5,6

<i>Lophodermium corconticum</i>	6	13,0			7	17,9	5	13,9
<i>Lophodermium</i> sp. 1	1	2,2			1	2,6		
<i>Lophodermium</i> sp. 2							2	5,6
<i>Massarinaceae</i>					3	7,7		
<i>Micraspidaceae</i>	1	2,2	3	8,1	2	5,1	4	11,1
<i>Microsphaeropsis olivacea</i>					2	5,1	2	5,6
<i>Moellerodiscus</i> sp.					1	2,6	2	5,6
<i>Mollisia scopiformis</i>	1	2,2			1	2,6		
<i>Mollisia</i> s. <i>stricto</i> sp. 1	3	6,5			2	5,1		
<i>Mollisia</i> s. s. sp. 2					4	10,3		
<i>Mollisia</i> s. s. sp. 3							1	2,8
<i>Mollisia</i> s. s. sp. 4			1	2,7	1	2,6		
<i>Mollisia</i> s. s. sp. 5	1	2,2						
<i>Mollisia</i> s. s. sp. 6	1	2,2						
<i>Mollisia</i> s. s. sp. 7	2	4,3					1	2,8
<i>Mollisia</i> s. <i>lato</i>	5	10,9	14	37,8	6	15,4	6	16,7
<i>Nemania diffusa</i>	1	2,2						
<i>Nemania serpens</i>							2	5,6
<i>Nemania</i> sp. 1					4	10,3		
<i>Nemania</i> sp. 2					2	5,1		
<i>Neurospora calospora</i>					1	2,6		
<i>Nigrospora gorlenkoana</i>	5	10,9	3	8,1	2	5,1	2	5,6
<i>Nigrospora sphaerica</i>					1	2,6		
<i>Pachyramichloridium</i> sp.							4	11,1
<i>Penicillium glaucoalbidum</i>					1	2,6	1	2,8
<i>Penicillium bialowiezense</i>					1	2,6		
<i>Penicillium</i> sp. 1					1	2,6		
<i>Penicillium</i> sp. 2							1	2,8
<i>Penicillium</i> sp. 3								

<i>Phacidium</i> sp.	1	2,2						
<i>Phomatodes pilosa</i>							2	5,6
<i>Phanerochaete sordida</i>							1	2,8
<i>Phaeotheca fissurella</i>	2	4,3	1	2,7	1	2,6		
<i>Phaeothecaceae</i>	1	2,2	1	2,7				
<i>Phialocephala</i> sp.							2	5,6
<i>Rosellinia corticium</i>							2	5,6
<i>Sirococcus conigenus</i>					2	5,1		
<i>Soosiella</i> sp.	3	6,5	2	5,4	1	2,6	2	5,6
<i>Sordaria fimicola</i>	4	8,7			1	2,6	2	5,6
<i>Stylonectria hetmanica</i>			1	2,7				
<i>Synnemapestaloides</i> sp.	1	2,2	2	5,4			1	2,8
<i>Therrya pini</i>	1	2,2	1	2,7				
<i>Therrya</i> sp.1	1	2,2			1	2,6		
<i>Therrya</i> sp.2	2	4,3						
<i>Trichoderma parapiluliferum</i>	1	2,2	1	2,7				
<i>Trichoderma viridescens</i>	1	2,2					2	5,6
<i>Trichoderma viride</i>								
<i>Tympanis</i> sp.			1	2,7	1	2,6	12	33,3
<i>Variabilispora</i> sp.			1	2,7				
<i>Varicosporium</i> sp.	1	2,2						
<i>Xylaria longipes</i>	1	2,2	5	13,5			4	11,1
<i>Xylariaceae</i>							1	2,8

3.5. Związek przyrostu radialnego kosodrzewiny z nasileniem zamierania pędów

Wśród 5 przeanalizowanych pędów bezobjawowych średnia liczba pędów wierzchołkowych wahała się od 13 do 20 szt. (śr. 20,4), natomiast drugiej grupie pędów ze słabym zamieraniem wierzchołków, średnia liczba pędów wynosiła 36 i wahała się od 16 do 70, a średnia liczba zamartwych wierzchołków wynosiła 2,2 szt. Z kolei pędy ze średnim zamieraniem wierzchołków

(6,2 szt. na pęd) miały od 22 do 74 pędów wierzchołkowych. W ostatniej grupie pędy z silnie zamierającymi wierzchołkami od 31,8% do 100% (średnio 50,3%) miały tylko śr. 20 wierzchołków/pęd (Tab. 12). Wraz z nasileniem zamierania wierzchołków zwiększał się udział starych, zamarłych wierzchołków z 1,4% dla grupy słabego zamierania, do 4,6% dla średniego zamierania wierzchołków, do 5,2% dla grupy pędów z silnie zamierającymi wierzchołkami.

Tab. 12. Charakterystyka pędów bezobjawowych i objawowych pędów wierzchołkowych na długości 50 cm

Nr pędu	Liczba pędów wierzchołkowych					Liczba pędów (g+b)	Liczba zamarłych wierzchołków	% zamarłych wierzchołków
	zdrowych	ze świeżo zamarłym wierzchołkiem (brunatne igły)		ze starym zamarłym wierzchołkiem (bez igieł) ale dolna część pędu z igłami				
		główny (g)	boczne (b)	główny	boczne			
1	16					16	0	0
2	13					13	0	0,0
3	25					25	0	0,0
4	20					20	0	0,0
5	28					28	0	0
6	40	1				41	1	2,4
7	15				1	16	1	6,3
8	64		1		5	70	6	8,6
9	15				1	16	1	6,3
10	35		2			37	2	5,4
11	23	1	2		6	32	9	28,1
12	19				4	23	4	17,4
13	32				5	37	5	13,5
14	64		1	1	8	74	10	13,5
15	19	1	2			22	3	13,6
16	15		3	1	6	25	10	40,0
17	26	1			12	39	13	33,3
18	7		6			13	6	46,2
19				1	3	4	4	100,0
20	15	1	1		5	22	7	31,8

Średni roczny przyrost radialny pędów na wysokości 50 cm od wierzchołka wynosił 0,82 mm dla pędów bezobjawowych i był mniejszy prawie dwukrotnie (0,45 mm) na pędach z

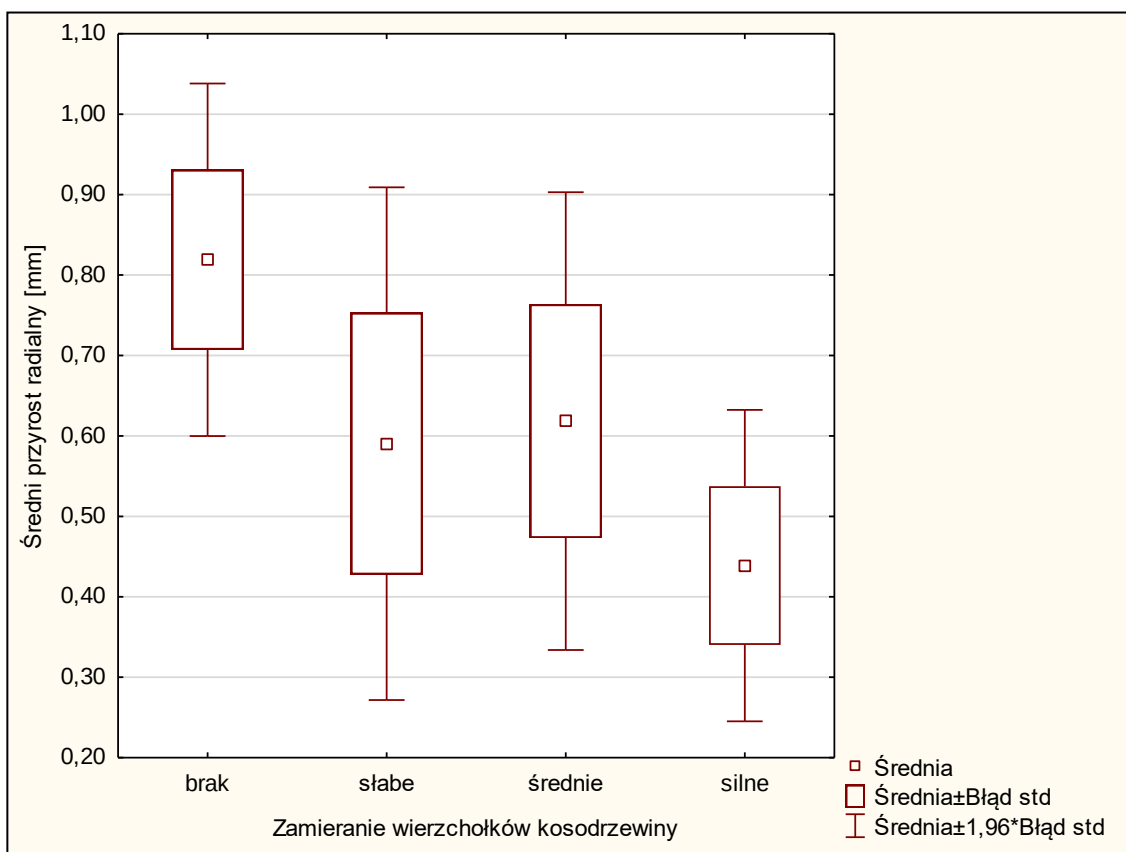
silnie zamierającymi wierzchołkami. Ta zależność dotyczyła przyrostu z ostatnich 5 lat i nieznacznie zmniejszała się, gdy brano pod uwagę przedział czasowy od ostatnich 6 do 10 lat. Wartość współczynnika korelacji pomiędzy nasileniem zamierania wierzchołków pędów a ich przyrostem radialnym była średnia i wynosiła -0,45 mm, natomiast dla przyrostów z ostatnich 6 do 10 lat była nieco mniejsza i wynosiła -0,38 mm (Tab. 13).

Tab. 13. Średni przyrost radialny pędów przez 5 ostatnich lat, od ostatnich 6 do 10 ostatnich lat i przez 10 ostatnich lat w zależności od stopnia nasilenia zamierania wierzchołków oraz wartość współczynnika korelacji.

Zamieranie wierzchołków pędów	Średni przyrost roczny pędów w okresie:								
	do 5 lat			od ostatnich 6 do 10 lat			do 10 lat		
	Średnia	Odch. std	wsp. korelacji	Średnia	Odch. std	wsp. korelacji	Średnia	Odch. std	wsp. korelacji
brak	0,82	0,25	-0,445	0,88	0,44	-0,378	0,79	0,26	-0,398
słabe	0,59	0,36		0,68	0,36		0,62	0,35	
średnie	0,62	0,32		0,75	0,42		0,65	0,30	
silne	0,44	0,22		0,54	0,29		0,52	0,28	
Ogółem	0,62	0,30		0,71	0,38		0,65	0,29	

Statystycznie istotna różnica wystąpiła pomiędzy nasileniem zamierania pędów a przyrostem radialnym wystąpiła tylko pomiędzy pędami bezobjawowymi i z silnie zamierającymi wierzchołkami dla przyrostów z ostatnich 5 lat (Ryc. 11, Tab. 14).

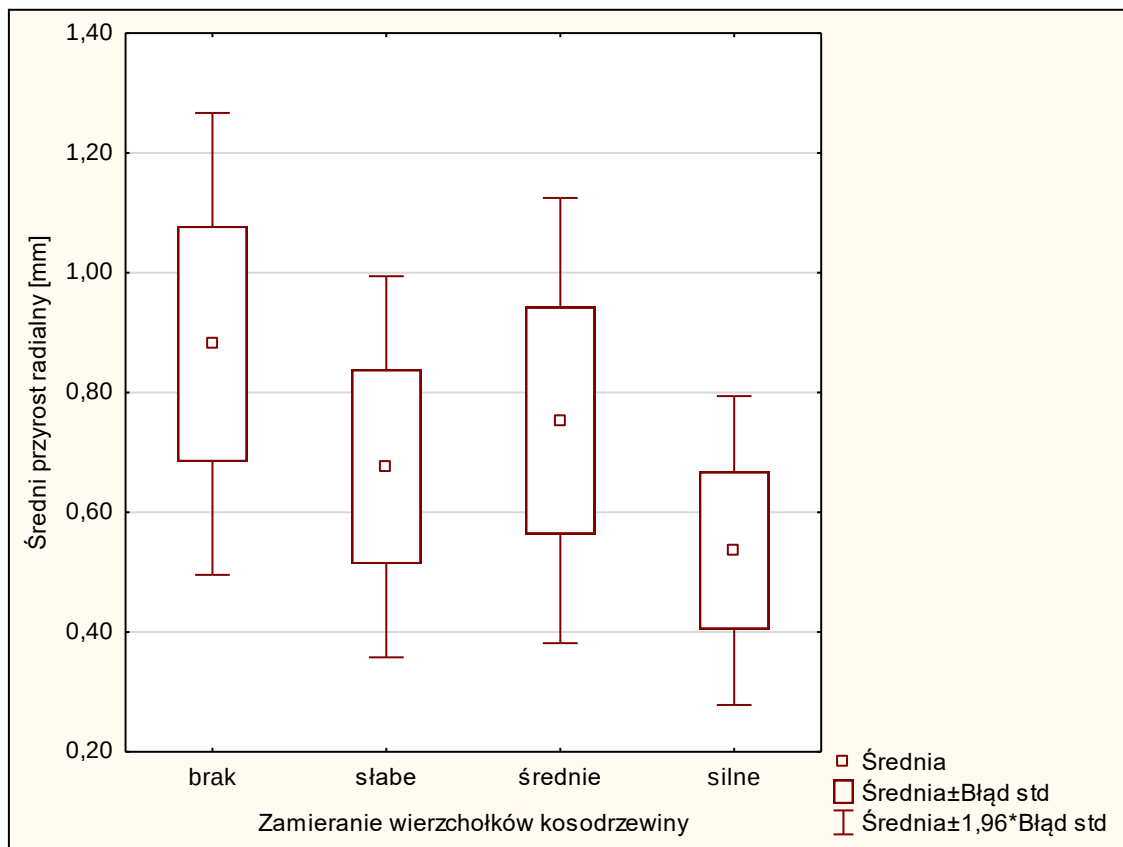
Dla pozostałych przedziałów czasowych nie wystąpiła statystycznie istotna korelacja dla tych parametrów (Ryc. 12, 13, Tab. 15,16). Prawdopodobnie miało na to wpływ zbyt mała liczba (5 szt.) pędów uwzględniona przy tych analizach.



Ryc.11. Średni przyrost radialny pędu przez ostatnie 5 lat w zależności od nasilenia zamierania wierzchołków pędów.

Tab. 14. Wynik statystyki dla przyrostów radialnych z ostatnich 5 lat.

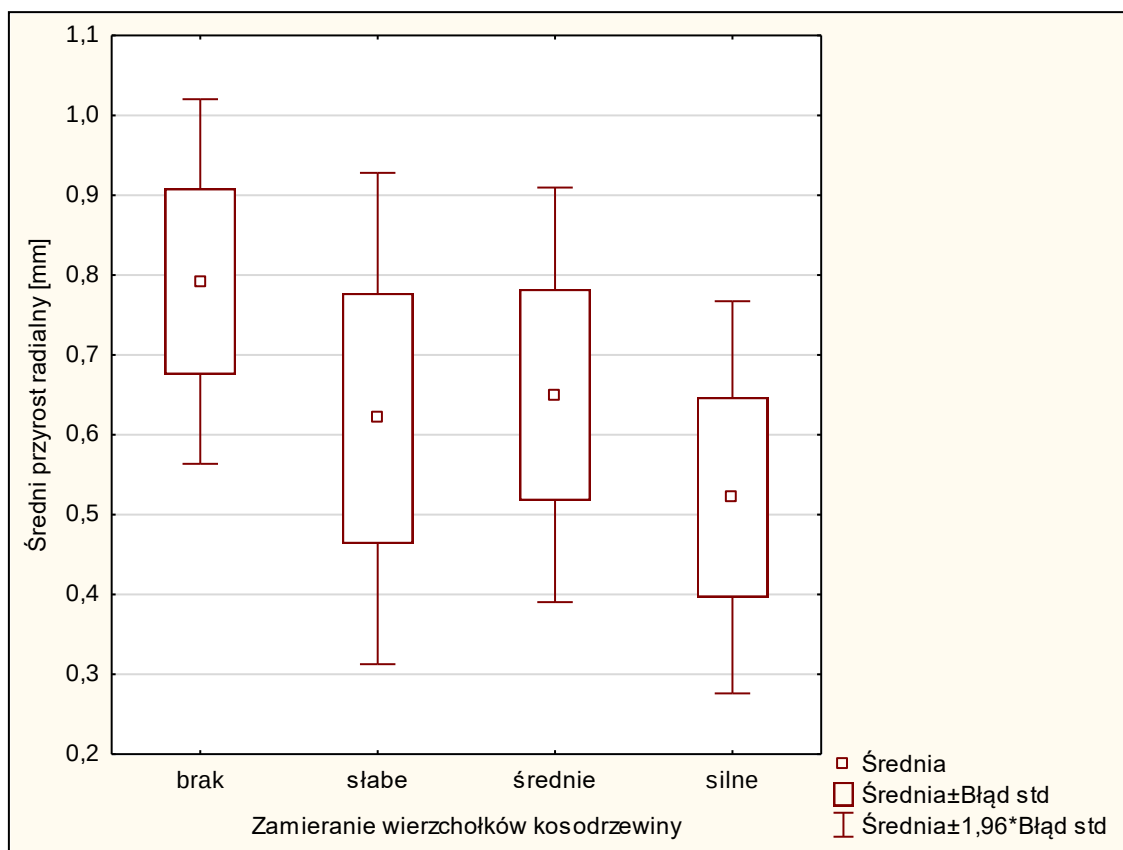
Zamieranie wierzchołków	Test NIR; Zmienna: (Arkusz1)			
	Zaznaczone różnice są istotne z p < ,05900			
	{1}	{2}	{3}	{4}
	M=,81900	M=,59040	M=,61840	M=,43880
brak {1}		0,238673	0,298721	0,058688
słabe {2}	0,238673		0,882701	0,428867
średnie {3}	0,298721	0,882701		0,350542
silne {4}	0,058688	0,428867	0,350542	



Ryc. 12. Średni przyrost radialny pędu od ostatnich 6-10 lat w zależności od nasilenia zamierania wierzchołków pędów.

Tab. 15. Wynik statystyki dla przyrostów radialnych z ostatnich 6 do 10 lat.

Zamieranie wierzchołków	Test NIR; Zmienna: (Arkusz1)			
	Zaznaczone różnice są istotne z $p < ,05000$			
	{1}	{2}	{3}	{4}
	M=,88120	M=,67600	M=,75320	M=,53620
brak {1}		0,411327	0,605951	0,175276
słabe {2}	0,411327		0,755061	0,573464
średnie {3}	0,605951	0,755061		0,385553
silne {4}	0,175276	0,573464	0,385553	



Ryc. 13. Średni przyrost radialny pędu w ciągu ostatnich 10 lat w zależności od nasilenia zamierania wierzchołków pędów.

Tab. 16. Wynik statystyki dla przyrostów radialnych z ostatnich 10 lat.

Zamieranie wierzchołków	Test NIR; Zmienna: (Arkusz1) Zaznaczone różnice są istotne z $p < ,05000$			
	{1}	{2}	{3}	{4}
brak {1}	M=,79193	M=,62042	M=,64997	M=,52164
słabe {2}		0,377636	0,463478	0,171920
średnie {3}	0,377636		0,877743	0,608360
silne {4}	0,463478	0,877743		0,506848
	0,171920	0,608360	0,506848	

4. Wnioski końcowe

1. Na wszystkich badanych powierzchniach, kosodrzewina została dotknięta procesem chorobowym, który znajduje się w różnym stopniu zaawansowania, na co pewien wpływ może wywierać wysokość n.p.m. Zjawisko zamieranie pędów wystąpiło w mniejszym nasileniu, niż w latach poprzednich i nie przekraczało zwykle 5% analizowanych pędów wierzchołkowych. Jedynie na wyższych wysokościach, proces ten był miejscami bardziej nasilony, co wskazuje na istotne znaczenie warunków klimatycznych na proces chorobowy.

2. Do najważniejszych czynników pogodowych mogących wpływać na kształtowanie się procesu chorobowego kosodrzewiny, poprzez upodatkowanie jej na działanie patogenicznych grzybów należy zaliczyć niskie temperatury i długie zaleganie pokrywy śnieżnej.

3. Stwierdzono występowanie istotnej ujemnej korelacji między wielkością radialnego przyrostu słoju rocznych kosodrzewiny a nasileniem zamierania pędów. Najwięcej zamierających wierzchołków pędów wystąpiło przy średnim przyroście 0,44 mm, a u pędów zdrowych średni przyrost radialny wynosił 0,82 mm. Niski przyrost roczny kosodrzewiny wskazuje na obniżoną żywotność i w związku z tym na większą podatność na grzyby patogeniczne.

4. Najczęstszym symptomem chorobowym na pędach tegorocznych było zamieranie i brunatnienie całych igieł na szczycie pędu, zamarłe wierzchołki pędów bez igieł i przeżywiczenie pędów. Często pędy charakteryzowały się także zamarłymi wierzchołkami i dolną częścią pędu z zielonymi igłami w części środkowej.

5. Najczęstszym wewnętrznym objawem stwierdzonym na chorych pędach było występowanie całkowitej nekrozy pędu, najczęściej w części wierzchołkowej. Stosunkowo często w pędach kosodrzewiny obserwowano także nekrozę rdzenia w części wierzchołkowej pędu oraz w żywej części pędu, lokalne nekrozy perydermy wewnętrznej i rdzenia lub nekrozy występujące wyłącznie w rdzeniu.

6. Pędy kosodrzewiny zasiedlały bardzo liczne i zróżnicowane gatunkowo zbiorowiska grzybów (wykryto 131 taksonów). Częstość występowania poszczególnych gatunków grzybów zależała od typu objawu chorobowego (pędy symptomatyczne i asymptomatyczne), rodzaju tkanki (tkanki przyobwodowe pędów, rdzeń pędów, nasady igieł, szyszki) i lokalizacji powierzchni (niższe, wyższe położenia n. p. m.). Tkanki pędów z objawami chorobowymi były znacznie częściej skolonizowane przez grzyby (109 taksonów) niż pędy asymptomatyczne (52 taksonów). Jednak pod względem częstości występowania zaznacza się dominację zaledwie kilkunastu gatunków gdyż tylko 10 gatunków zasiedlało powyżej 10% pędów z objawami

chorobowymi. Z kolei najmniej gatunków stwierdzono na powierzchni II (49 taksonów), a najwięcej na powierzchni IV (69 taksonów).

7. Spośród wyizolowanych grzybów największą rolę w powodowaniu nekroz tkanek pędów kosodrzewiny należy przypisać *Hormonema cf. macrosporum*, a następnie *Mollisia* spp., *Lachnellula* spp., *Tympanis* sp., *Cytospora* sp. i *Herpotrichia juniperi*. Największą rolę w powodowaniu nekroz tkanek w pędach odgrywał *H. cf. macrosporum*, który dominował w izolacjach z symptomatycznych pędów kosodrzewiny. Grzyb ten pospolicie zasiedlał także żywe tkanki pędów, nie wykazujące objawów chorobowych i należy go uznać za typowego endofita kosodrzewiny. Ze względu na miejsce izolacji tego grzyba (nasady igieł, tkanka przyobwodowa i rdzeń pędu oraz wnętrze szyszek), może on jako pierwszy powodować nekrozy w tkankach pędów kosodrzewiny. *Hormonema cf. macrosporum* oraz powyżej wymienione patogeny przenikają do rdzenia pędu przez pączek szczytowy, nasadę igieł lub w miejscu kontaktu szyszki z pędem.

8. Okazjonalnie w procesie zamierania pędów mogą współuczestniczyć także inne patogeny, znane z wywoływania nekroz i raków na drzewach iglastych. Są to takie gatunki jak np. *Biscogniauxia mediterranea*, *B. nummularia*, *Botrytis cinerea*, *Cenangium ferruginosum*, *Cytospora* sp., *Fusarium* sp., *Sirococcus conigenus* i *Sphaeropsis sapinea*.

9. Na zamierających pędach kosodrzewiny nie stwierdzono obecności grzyba *Gremmeniella abietina* - znanego sprawcy zamierania pędów sosny.

10. Grzyb *Herpotrichia juniperi* preferował kosodrzewinę rosnącą w jej dolnym zasięgu. Gatunek ten powodował stosunkowo duże szkody, przyczyniając się do zamierania całych pędów a nawet całych drzewek kosodrzewiny. Szczególne nasilenie tej choroby było widoczne w zagłębieniach terenu, gdzie dłużej zalega śnieg.

11. Wraz z wysokością n.p.m. zmieniała się mykobiota zasiedlająca pędy kosodrzewiny. Niektóre taksony (16) występowało tylko w najniższej położonej powierzchniach a niektóre w najwyższej położonej (25 taksonów). Zaobserwowano również systematyczny wzrost liczby niektórych taksonów wraz ze wzrostem wysokości lub zmniejszanie się tej liczby wraz ze zmniejszaniem się liczby gatunków. Świadczy to o dużej roli warunków meteorologicznych na mykobiota zasiedlającą kosodrzewinę.

12. Zamierające i asymptomatyczne pędy kosodrzewiny są substratem, na którym rozwija się wiele nieznanych wcześniej nauce gatunków grzybów. Badania wykazały, że wśród wyizolowanych 131 taksonów grzybów około 50 z nich reprezentuje nowe gatunki dla nauki.