

- WOJEWODA W., ŁAWRYNOWICZ M. 2006. Czerwona lista grzybów wielkoowocnikowych w Polsce. In: MIREK Z., ZARZYCKI K., WOJEWODA W., SZELAĞ Z. (Eds.). Czerwona lista roślin i grzybów Polski. Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN, Kraków: 53-70.
- WRIGHT J.E. 1987. The Genus *Tulostoma* (Gasteromycetes) – A World Monograph. Bibl. Mycol. 113: 1-338.

Summary

According to the Polish Red List of Macromycetes *Tulostoma brumale* and *T. fimbriatum* are threatened species in Poland. New stands of these fungi were found in the „Skarpy Ślesieńskie” nature reserve, in March 2015. Basidiomes of *T. brumale* and *T. fimbriatum* grew in the thermophilous xerothermic grasslands in patches of *Adonido-Brachypodium pinnati* on limestone soil.

Adres autora:

Natalia Stokłosa
Katedra Mykologii i Mykoryzy, Instytut Biologii Środowiska
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy
al. Ossolińskich 12, 85-093 Bydgoszcz
e-mail: n.stoklosa@ukw.edu.pl

Wojciech Pusz, Maciej Romański

GRZYBY MIKROSKOPIJNE POWIETRZA NOR BORSUCZYCH W WIGIERSKIM PARKU NARODOWYM

The microscopic fungi in the air of badger burrow in the Wigry National Park

Grzyby stanowią istotny element ekosystemu obiektów podziemnych (jaskiń, sztolni, tune-
li, bunkrów itp.) pełniąc w nich różne role (destruenci, pokarm, pasożyty). Występują przede
wszystkim na materii organicznej takiej jak odchody ludzi i zwierząt, albo zasiedlają i roz-
kładają martwy materiał organiczny. W podziemiach grzyby występują najczęściej w postaci
zarodników, które dostają się do wnętrza jaskiń oraz innych obiektów głównie dzięki prądom
powietrza, wodzie, ludziom odwiedzającym jaskinie (Chelius et al. 2009, Vanderwolf et al.
2013, Pusz et al. 2018a) i zwierzętom, np. nietoperzom (Vanderwolf et al. 2013, Kokurewicz et
al. 2016). Najczęściej występującymi grzybami są gatunki z rodzajów: *Aspergillus*, *Penicillium*,
Mucor, *Fusarium*, *Trichoderma* oraz *Cladosporium* i *Alternaria* (Pusz et al. 2018b). Dotychczas
niewiele prac było poświęconych badaniom różnorodności gatunkowej grzybów występują-
cych w miejscach bytowania zwierząt. Większą uwagę zwraca się na zwierzęta hodowlane i
grzyby powodujące różnego rodzaju stany chorobowe. Takie badania prowadzono np. w obo-
rach krów mlecznych, gdzie stwierdzono obecność gatunków mogących wpływać negatywnie
na zdrowie pracowników (Pusz et al. 2015b). Badania mykobioty towarzyszącej zwierzętom
dzikim prowadzono m.in. w miejscu hibernacji nietoperzy (Kokurewicz et al. 2016) oraz w
gawrach niedźwiedzi (Pusz et al. 2018a).

Celem obecnych badań jest wstępna analiza powietrza nor borsuczych pod względem występowania zarodników grzybów i próba powiązania tych informacji z zasiedlaniem nor przez zwierzęta.

Obserwacje były prowadzone w Wigierskim Parku Narodowym (WPN) (ryc. 1) w lipcu i październiku 2017 roku.

Borsuk europejski *Meles meles* na terenie WPN jest gatunkiem częstym. W nagraniach z fotopułapek zajmuje czwarte miejsce pod względem częstości rejestracji (po jeleniu, dziku i sarnie). Często spotykane są też w terenie ślady aktywności tych zwierząt jak: dołki żerowe i latryny. Obszar Parku, nie jest jednorodnie zasiedlony przez borsuki. Najwięcej norowisk i śladów aktywności znajduje się w jego północnej części, co ma związek z żyznością środowiska. Uboższa siedliskowo, południowa część odznacza się mniejszym zagęszczeniem tego gatunku.

Na terenie WPN nie jest prowadzona dokładna inwentaryzacja ani monitoring norowisk borsuków. Wiedza na temat występowania tego gatunku ma charakter wyrywkowy i pośredni. Obecnie znanych jest ponad 130 nor i norowisk, jednak jedynie 70 można przypisać borsukom. Dużych norowisk, o ponad 6 wylotach, znanych jest ok. 10, ponad 40 posiada od 2 do 5 wylotów, pozostałe to nory o pojedynczych wylotach. Brak jest również monitoringu ich zasiedlenia, informacje na ten temat są wyrywkowe. Niektóre ze znanych norowisk zasiedlone były przez minimum kilkanaście lat, a następnie porzucane. Co roku powstają też nowe norowiska. Najtrudniej ustalić zasiedlenie nor stanowiących refugia, na terytorium danej grupy. Mianem refugium określa się istniejące poza głównym norowiskiem pojedyncze nory, które są wykorzystywane jako miejsca ukrycia lub krótkotrwałego pobytu. Bywa, że są one użytkowane na zmianę przez borsuki i lisy, a niekiedy całkowicie porzucane. Zdarzają się również opuszczone duże norowiska.



Ryc. 1. Lokalizacja norowisk objętych badaniami mykologicznymi na terenie Wigierskiego Parku Narodowego.

Fig. 1. Localisation of burrows covered by mycologic research in Wigry National Park.

Badania prowadzono w norach zasiedlonych przez zwierzęta, opuszczonych, jak i użytkowanych okresowo lub jako refugia. Próbkę pobierano latem w 5 norowiskach, a jesienią w 7 norowiskach zlokalizowanych na terenie całego Parku (ryc. 1, fot. 1). Dokładny opis norowisk zawarty jest w tabeli 1.

Analizę powietrza wykonano metodą zderzeniową z wykorzystaniem aparatu Air Ideal 3P z użyciem podłoża hodowlanego PDA (Potato Dextrose Agar) firmy Biocorp (fot. 2). W trakcie badań pobierano próbki o objętości 10 l i 20 l. W każdej norze pomiary wykonywano w trzech powtórzeniach. Aparat umieszczono we wnętrzu nory, około 20-30 cm od wylotu (fot. 3). Hodowlę grzybów na pożywcę prowadzono w temperaturze pokojowej (22°C) przez okres 7 dni. Po zakończeniu inkubacji zliczano liczbę ukazujących się kolonii, a grzyby oznaczano do gatunku wg cech morfologicznych, korzystając z dostępnych monografii (Pitt i Hocking 2009, Watanabe 2011). W tym celu z 7-dniowej grzybni pobierano zarodniki wraz z grzybnią, które następnie obserwowano pod mikroskopem. Następnie obliczano liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) w przeliczeniu na 1000 l (1 m³) powietrza wg wzoru:

$$X = (a \times 1000) / V$$

w którym: a – suma kolonii grzybów, które wyrosły na szalce, V – objętość pobranego powietrza atmosferycznego w litrach.

W powietrzu badanych nor stwierdzono występowanie 14 taksonów grzybów, z czego 9 stwierdzono w okresie letnim, a 12 – jesienią (tab. 2 i 3). Najczęściej izolowano grzyby z rodzaju *Penicillium*: *P. chrysogenum* oraz *P. meleagrimum*, których wyraźna dominacja w mykobiocie powietrza nor borsuczych miała miejsce jesienią. Wartość jtk w m³ w niektórych norach przekraczała 1000 jednostek (jesienią – Czerwony Krzyż oraz nora zlokalizowana przy drodze wojewódzkiej Suwałki-Sejny; latem – nory w Rezach i Sobolewie). Stwierdzono również wysokie wartości jednostek tworzących kolonie grzyba *Cladosporium cladosporioides*, szczególnie w okresie jesiennym. Najwyższe wartości zanotowano na Borsucznej Górze, zarówno jesienią, jak i latem. Interesujący jest również fakt występowania grzyba *Botrytis cinerea*, który notowano w każdym norowisku podczas jesiennego poboru próbek. Sporadycznie w powietrzu nor borsuczych stwierdzano grzyby z rodzajów *Fusarium* czy *Trichoderma*.

Powszechne w powietrzu zarodniki grzybów z rodzaju *Penicillium* mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Niektóre gatunki produkują szkodliwe mykotoksyny, wywołują mykozy oraz inne schorzenia układu oddechowego (Sweeney i Dobson 1998, Górny 2010, Jurado et al. 2010). Oprócz mykotoksynotwórczych gatunków z rodzaju *Penicillium*, w powietrzu nor borsuczych stwierdzano także zarodniki innych grzybów takich jak na przykład *B. cinerea*, który jest pospolitym patogenem wielu gatunków roślin. Najwyższe wartości jednostek tworzących kolonie stwierdzono w lipcu, co jest zapewne związane ze szczytem sezonu wegetacyjnego i infekcjami rosnących wokół nor roślin (Pusz 2016). Jest możliwe, że zarodniki dostały się do wnętrza nory wraz z prądami powietrza, albo zostały wniesione przez borsuki (lub inne zwierzęta), a następnie rozwijały się na martwej oraz żywej materii organicznej (fot. 4). Z kolei grzyby z rodzaju *Cladosporium* i *Alternaria* powszechnie występują pod koniec sezonu wegetacyjnego na polach uprawnych oraz na roślinach dziko rosnących, powodując czerni oraz plamistości liści.

Badania miały charakter rozpoznawczy. Trudno na tym etapie stwierdzić czy mykobiota powietrza nor może świadczyć o ich zasiedleniu przez borsuki, lisy czy też inne gatunki zwierząt. Aby określić zależności pomiędzy różnorodnością gatunkową grzybów mikroskopijnych norowisk, a ich potencjalnym wykorzystaniem przez zwierzęta, konieczne są badania w kolejnych sezonach oraz w większej liczbie obiektów.



Fot.1. Nora borsucza w rejonie miejscowości Czerwony Krzyż (fot. K. Patejuk).
Photo 1. Badger borrow nearby Czerwony Krzyż (photo by K. Patejuk).



Fot. 2. Aparat Air Ideal 3P wykorzystywany do badań aeromycologicznych (fot. K. Patejuk).
Photo 2. Air Ideal 3P – equipment used in aeromycological research (photo by K. Patejuk).



Fot. 3. Pobieranie powietrza z nory (fot. K. Patejuk).
Photo 3. Air collecting from the burrow (photo by K. Patejuk).



Fot. 4. Zdjęcie z fotopułapki umieszczonej tuż przy norze borsuka. Na zdjęciu borsuk wciągający liście do wnętrza nory (fot. M. Romański).
Photo 4. A photograph from camera trap located by the burrow's hollow. On the photo, a badger removing leaves from the burrow, can be noticed. (photo by M. Romański).

Tab. 1. Opis nor borsucznych objętych badaniami w Wigierskim Parku Narodowym.

Tab. 1. Description of controlled badger burrows in Wigry National Park.

Symbol	Nazwa potoczna / lokalna	Charakterystyka i opis norowiska
NB/48i	Borsuczka Góra	Jedno z największych i prawdopodobnie najstarszych norowisk borsuka. Zajmuje ono wierzchołek niewielkiego wyniesienia i posiada 12 wylotów. W kolejnych latach, użytkowane są zwykle tylko 3-5 wyloty, pozostałe pozostają niewykorzystywane. W chwili pobierania prób, użytkowana była część tuneli znajdujących się po zachodniej stronie wierzchołka. Próby pobrano z tunelu będącego w użyciu oraz z tunelu, który był wykorzystywany w 2003 r., potem został porzucony.
NB/79a	Droga krajowa 635	Niewielka nora z 1 wylotem, zlokalizowana na ścianie dawnego wykopu o ekspozycji zachodniej. Stale użytkowana była w 2016 r., później jej wylot został rozkopany przez wilki. W 2017 r. porzucona lub sporadycznie wykorzystywana jako refugium.
NB/83c	Bindasowa droga	Dynamicznie rozwijające się norowisko o 10 wylotach. Zlokalizowane na niewielkim skłonie o ekspozycji zachodniej.
NB/96f	Poletko	Niewielkie norowisko o 4 wylotach, zlokalizowane na płaskim terenie i ukryte pod wykrotem. W 2016 r. było trwale zasiedlone. W 2017 roku wykorzystywane okresowo jako refugium.
NB113b	Sobolewo	Rozległe norowisko, zlokalizowane na terenie płaskim, o 9 wylotach. Bardzo dynamicznie rozwijające się i trwale użytkowane od 2014 roku. Większość tuneli jest cały czas użytkowana.
NB/224a	Rezy	Nieduże norowisko o 3 wylotach, zlokalizowane na stoku o północnej ekspozycji. Do wiosny 2017 roku trwale zasiedlone. W chwili poboru prób porzucone lub użytkowane sporadycznie jako refugium.
NB/238b	Czerwony Krzyż	Niewielkie norowisko o 4 wylotach, zlokalizowane na terenie płaskim, w niewielkim zagłębieniu terenu. W chwili poboru prób prawdopodobnie porzucone lub sporadycznie wykorzystywane jako refugium.

Tab. 2. Grzyby występujące w powietrzu nor borsuczych w Wigierskim Parku Narodowym (lipiec 2017 r.) [JTK/m³].Tab. 2. Fungi found in badger's borrow air in Wigry National Park (July 2017) [JTK/m³]

Gatunek grzyba	Lokalizacja norowisk					
	Środowisko zewnętrzne	Borsucza Góra (NB/48i)	Borsucza Góra (NB/48i)	Rezy (NB/224a)	Sobolewo (NB/113b)	Czerwony Krzyż (NB/238b)
	X	Tunele nieużytkowane	Tunele użytkowane	Użytkowana okresowo	Użytkowana	Użytkowana okresowo
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	15	50				20
<i>Aspergillus brasiliensis</i> Varga, Frisvad & Samson		20				
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fre-sen.) G.A. de Vries	50	1900				100
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.		10				40
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer		650		30		30
<i>Penicillium meleagridum</i> Biourge	100		100	4000	2000	
<i>Penicillium</i> spp.		100				30
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai		950	100			
<i>Trichoderma polysporum</i> (Link) Rifai			90			
Kolonie nie-zarodnikujące	60	110				30
Razem	225	3790	290	4000	2000	250

Tab. 3. Grzyby występujące w powietrzu nor borsucznych w Wigierskim Parku Narodowym (październik 2017 r.) [JTK/m³].Tab. 3. Fungi found in badger's borrow air in Wigry National Park (October 2017) [JTK/m³]

Gatunek grzyba	Lokalizacja norowisk								
	Śródwi- sko ze- wnętrzne	Borsucza Góra (NB/48i)	Borsucza Góra (NB/48i)	„Poletko” (NB/96f)	Rezy (NB/224a)	Sobolewo (NB/113b)	Czerwony Krzyż (NB/238b)	Droga nr 635 (NB/79a)	Bindasowa Droga (NB/83c)
	X	Tunele nieużytko- wane	Tunele użytko- wane	Użytko- wana okresowo	Użytko- wana okresowo	Użytko- wana	Użytko- wana okresowo	Użytko- wana okresowo	Użytko- wana
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.									30
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	30	30	10	30	30	30	30	40	10
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	100	990	200	110	50	100	100	400	200
<i>Epicoccum nigrum</i> Link							10	10	
<i>Fusarium culmorum</i> Wm.G. Sm.) Sacc.	10		10						
<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl.	20								10
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	80	90	10			900			100
<i>Penicillium meleagridum</i> Biourge	30	100	120	300	600	100	3000	1300	30
<i>Penicillium</i> spp.	50	100		300					
<i>Trichoderma hamatum</i> (Bonord.) Bainier			40						
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai			30					30	
<i>Trichoderma polysporum</i> (Link) Rifai	30					30	30		30
Kolonie nie-zarodnikujące		110				100	100		100
Kolonie drożdżoidalne		100							
Razem	300	1420	420	740	680	1260	3270	1780	510

Podziękowania

Autorzy pragną podziękować pani mgr inż. Katarzynie Patejuk (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu) za pomoc podczas prac terenowych oraz wykonanie fotografii.

LITERATURA

- CHELIUS M.K., BERESFORD G., HORTON H., QUIRK M., SELBY G., SIMPSON R.T., HORROCKS R., MOORE J.C. 2009. Impacts of alterations of organic inputs on the bacterial community within the sediments of Wind Cave, South Dakota, USA. *Int. J. Spel.* 38: 1-10.
- GÓRNY R.L. 2010. Aerozole biologiczne – rola normatywów higienicznych w ochronie środowiska i zdrowia. *Environ. Med.* 13, 1: 41-51.
- JURADO V., LAIZ L., RODRIGUEZ-NAVA V., BOIRON P., HERMOSIN B., SANCHEZ-MORAL S., SAIZ-JIMENEZ C. 2010. Pathogenic and opportunistic microorganisms in caves. *Int. J. Spel* 39: 15-24.
- KOKUREWICZ T., OGÓREK R., PUSZ W., MATKOWSKI K. 2016. Bats Increase the Number of Cultivable Airborne Fungi in the “Nietoperek” Bat Reserve in Western Poland. *Microb. Ecol.* 72, 1: 36-48.
- PITT J.I., HOCKING A.D. 2009. *Fungi and food spoilage*. New York, Springer, USA.
- PUSZ W. 2016. Plants' healthiness assessment as part of the environmental monitoring of protected mountainous area in the example of Karkonosze (Giant) Mts. (SW Poland). *Environ. Monit. Assess.* 188, 10: 1-15.
- PUSZ W., BATURO-CIEŚNIEWSKA A., ZWIJACZ-KOZICA T. 2018a. Culturable Fungi in Brown Bear Cave Dens. *Pol. J. Environ. Stud.* 27, 1: 247-255.
- PUSZ W., KRÓL M., ZWIJACZ-KOZICA T. 2018b. Airborne fungi as indicators of ecosystem disturbance: an example from selected Tatra Mountains caves (Poland). *Aerobiologia* 34, 1: 111-118.
- PUSZ W., OGÓREK R., KNAPIK R., KOZAK B., BUJAK H. 2015a. The occurrence of fungi in the recently discovered Jarkowicka cave in the Karkonosze Mts. (Poland). *Geomicrobiol. J.* 32: 59-67.
- PUSZ W., PŁASKOWSKA E., WEBER R., KITA W. 2015b. Assessment of the abundance of airborne fungi in cattle barn of dairy farm. *Pol. J. Environ. Stud.* 24, 1: 241-248.
- SWEENEY M., DOBSON A. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Int. J. Food Microbiol.* 43: 141-158.
- VANDERWOLF K.J., MALLOCH D., MCALPINE F., FORBES G.J. 2013. A world review of fungi, yeasts, and slime molds in caves. *Int. J. Speleol.* 42: 77-96.
- WATANABE T. 2011. *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. CRC press, USA.

Summary

The note is devoted to the results of research conducted in summer and autumn of 2017 in the Wigry National Park. Species diversity of fungi occurring in the air of burrows was stipulated, to answer the question whether it is possible to use this method to determine if burrows are occupied (or not) by badgers or other species of animals. 14 species of fungi were isolated during this burrow's air test. Fungi of *Penicillium* genus had the largest share.

Adresy autorów:

Wojciech Pusz
Zakład Fitopatologii i Mykologii, Katedra Ochrony Roślin
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
pl. Grunwaldzki 24a, 50-363 Wrocław
e-mail: wojciech.pusz@upwr.edu.pl

Maciej Romański
Wigierski Park Narodowy
Krzywe 82, 16-402 Suwałki
e-mail: maciej.romanski@wigry.org.pl