

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



Bakalářská práce

**Diverzita a funkce mikroskopických hub v opadu
jehličnatých dřevin**

Diversity and function of microscopic fungi in coniferous litter

Zuzana Kolářová

2009

školitel: Mgr. Ondřej Koukol, Ph.D.

Poděkování

Především bych chtěla poděkovat mému školiteli Mgr. Ondřeji Koukolovi, Ph.D. za poskytnutí veškerých konzultací práce a za pomoc s vyhledáváním literatury.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině za všeobecnou podporu.

Abstrakt

Tato bakalářská práce je literární rešerší, která se týká tzv. mikroskopických hub (*Ascomycetes*, *Zygomycetes*) z opadu jehličnatých dřevin. Cílem bylo odpovědět na následující otázky: co ovlivňuje diverzitu mikroskopických hub v opadu, jaká je jejich role v dekompozici opadu a jaké jsou jejich další funkce. Z mnoha faktorů, jež ovlivňují diverzitu, zmiňuji vliv druhu dřeviny, meteorologických podmínek, znečištění prostředí, škůdců jehličnanů, kompetice a sukcese v opadu.

Mikroskopické houby se uplatňují jako dekompozitoři jednoduchých uhlovodíků a celulózy, jejich dekompoziční schopnosti jsou dány aktivitou extracelulárních enzymů. U několika druhů jsou zaznamenány i ligninolytické schopnosti a schopnost rozkládat xenobiotika. Jejich význam nespočívá jenom v rozkladu opadu, ale i ve vytváření stabilních huminových sloučenin. V celém systému půdy pak slouží dematiózní mikrohouby jako potrava bezobratlých živočichů.

Klíčová slova: askomycety, endofyty, dekompozice, jehličnatý opad, rekalitrantní látky

Abstract

This thesis is a literature review concerning so-called microfungi (*Ascomycetes*, *Zygomycetes*) in coniferous litter. The aim was to answer following questions: what does influence diversity of microscopic fungi in litter, what is their role in decomposition of litter and what are their other functions. From many factors influencing the diversity I make reference to an effect of a woody species, meteorology conditions, pollution of environment, coniferous pathogens, competition and succession in litter.

Microscopic fungi act as decomposers of simple sugars and cellulose, their abilities for decomposition are given by extracellular enzyme's activity. Ligninolytic abilities and xenobiotic degradation abilities are noted at several species. There is not only their importance in litter decomposition, but also in forming stable humic substances. Moreover dematiaceous fungi serve as food for invertebrates in the whole soil system.

Key words: ascomycetes, endophytes, decomposition, coniferous litter, recalcitrant substances

Obsah

1	Úvod	2
1.1	Jehličnaté lesy	2
1.2	Půda jehličnatého lesa	2
1.3	Úloha hub v půdě jehličnatých lesů	2
2	Diverzita mikroskopických hub v jehličnatém opadu	3
2.1	Kolonizace jehlice mikroskopickými houbami	4
2.2	Vliv druhu dřeviny	5
2.3	Vliv abiotických podmínek stanoviště	6
2.3.1	Meteorologické podmínky	6
2.3.2	Znečištění	7
2.4	Vliv biotických faktorů	8
2.4.1	Kompetice s dalšími mikroorganismy	8
2.5	Sukcese	9
3	Funkce mikroskopických hub v opadu	11
3.1	Dekompozice opadu	12
3.1.1	Enzymy hub a jejich změny v aktivitě	13
3.2	Další role v koloběhu živin	15
3.2.1	Askomycety a jejich vztah k huminovým sloučeninám a xenobiotikům	15
3.2.2	Mikroskopické houby jako potravní zdroj	16
4	Závěr a výhledy diplomové práce	17
5	Přehled použité literatury	18

1 Úvod

1.1 Jehličnaté lesy

Tyto ekosystémy nalezneme v podstatě jen na severní polokouli, v subpolárním, mírném a částečně v subtropickém pásu. Největší souvislý porost tvoří severní lesy - tajga, které pokrývají přibližně 11 % souše (Sánchez *et al.* 2009). Z velké části se podílí na utváření globálních cyklů energie, uhlíku a vody. Množství uhlíku, které je uloženo ve vegetaci a půdě tohoto biomu, tvoří největší pozemní zásobárnu tohoto prvku na světě.

1.2 Půda jehličnatého lesa

Jehličnaté lesy mají většinou podzolovité půdy, s nízkým pH a nízkou úživností. Hodnoty pH v jehličnatých lesích jsou často okolo 4 a nižší. Často je kyselost ještě podpořena používáním anorganických hnojiv (pokud se jedná o hospodářské lesy) a kyselým deštěm (Bardgett 2005).

Dekompozice opadu jehličnatého lesa probíhá velmi pomalu, jelikož je bohatý na komplexní strukturní složky jako je lignin a obranné složky jako jsou polyfenoly; tento materiál je také špatně stravitelný pro půdní faunu, což ještě více proces zpomaluje. Tím se odlišuje od opadu listnatých lesů, který se skládá spíše ze snadno degradovatelných látek jako jsou aminokyseliny a jednoduché sacharidy a rozkladné procesy jsou potom rychlejší (Bardgett 2005).

Houby hrají dominantní roli v dekompozici organické složky půdy v jehličnatém ekosystému, protože tolerují nízké půdní pH a jsou schopné rozložit těžko rozložitelné (*rekalcitrantní*) látky, které produkují rostliny tohoto ekosystému (Allison *et al.* 2008). Podobné půdní prostředí poskytují ještě vřesoviště a tundra. V ostatních ekosystémech s nízkým poměrem C:N brání většímu rozšíření houbového mycelia kroužkovci, kteří půdu mísí, vysoké pH, které upřednostňuje bakteriální komunitu, a menší akumulace organické hmoty (Lindahl *et al.* 2002).

1.3 Úloha hub v půdě jehličnatých lesů

Houby, podobně jako další mikroskopické organismy, osidlují různorodá prostředí a tudíž zasahují do širokého spektra procesů na Zemi. I pokud se omezíme na ekosystém půdy jehličnatého lesa, nalezneme mnoho jejich funkcí. Právě struktura houbové stélky je pro tyto organismy v půdě klíčová. Půda je heterogenní prostor se vzdušnými póry a různě rozloženými zdroji živin. Houbová hyfa snadno překonává místa na živiny chudá a díky penetračním

vlastnostem pronikne i do dobře chráněné organické hmoty (de Boer *et al.* 2005). Dohromady hyfy tvoří složitou síť mycelia, které dynamicky reaguje na změny prostředí.

Nejznámějším případem funkce hub je dekompozice organické hmoty. Látky, které houby rozloží, jsou dále distribuovány do prostoru skrze jejich mycelium a jsou v něm taky po nějakou dobu uskladněny (proces *imobilizace*). Doba, po kterou jsou v ní zadrženy, odpovídá životnosti těchto organismů. Tato schopnost je studována pouze u bazidiomycetů, kteří tvoří velké množství dlouhověkého mycelia a transportem živin si usnadňují kolonizaci nových substrátů. Primární kolonizátoři mezi nimiž jsou především mikroskopické houby, mají nižší investice do biomasy než dlouho žijící bazidiomycety (Dighton 2007) a jejich příspěvek k imobilizaci živin bude minimální.

Další důležitou funkci mají ektomykorhizní houby, které z půdy získávají živiny a vodu pro svého hostitele a umí zabránit vstupu patogenů či těžkých kovů do kořenů, nebo naopak akumulovat kovy esenciální. Podobně fungují i ostatní typy mykorhiz (Gadd 2007b). Ektomykorhizní houby spolu se saprotrofy jsou také schopny zvětrávat horniny pomocí vylučování organických kyselin v mikromolárních koncentracích (Dighton 2007). V biokontrolě parazitických hlístic rostlin se uplatňují nematofágní houby a zároveň mnoho druhů hub působí jako patogeni rostlin. Jejich abundanci mohou kontrolovat mykoparazitické houby (Vinale *et al.* 2008).

Ve své bakalářské práci jsem se snažila shrnout poznatky o houbách v jehličnatém opadu. Některé informace jsem použila z prací, které studovaly jiný substrát, ale s houbami, které můžeme v jehličnatém opadu očekávat.

2 Diverzita mikroskopických hub v jehličnatém opadu

Pro potřeby této práce termínem *mikroskopické houby*¹ označuji uměle vytvořenou skupinu hub, která je charakterizována především mikroskopickými vegetativními i rozmnožovacími strukturami. Tím se liší od jiné, rovněž uměle definované skupiny tzv. *makromycetů*. Pojem mikromycety (angl. ekv. *micromycetes*, *microfungi*) se používá v literatuře velmi často (např. Söderström a Bååth 1978; Hršelová *et al.* 1999; Hyde *et al.* 2007). Zařadila jsem sem zejména

¹ mikroskopické houby = houby, které mají malé (mikroskopické) sporokarpy (Kirk *et al.* 2001)

houby z třídy Ascomycetes a Zygomycetes. Třidu Basidiomycetes jsem vyloučila, přestože i u ní existují druhy s velmi malými plodnicemi.

Diverzitu mikroskopických hub v jehličnatém opadu ovlivňuje mnoho faktorů (Przybył *et al.* 2008), můžeme je rozdělit na biotické (kompetice) a abiotické (vlhkost, nadmořská výška, znečištění, ...). Přičemž se tyto vlivy mohou vzájemně prolínat, sčítat nebo diverzitu ovlivňují nepřímo (zdravotní stav stromu, stáří jehlic, ...). S některými faktory se houba setká již na stromě, některé na ni působí až přímo v opadu. Při kontaktu jehlice se zemí se houby musí vypořádat s různými vlastnostmi půdy a s přítomností dalších půdních hub a organismů. Přítomnost houby na substrátu je pak dána její schopností využít zdroj, rychlostí dosažení substrátu růstem nebo náletem spor a schopností kompetovat houbám s podobnou strategií (Dighton 2007).

Starší studie týkající se celkové diverzity hub, založené na kultivaci na agarovém médiu nebo pouhém pozorování plodnic (Hayes 1965; Söderström 1978; Solheim 1989), nejspíš zjistily jen zlomkovou diverzitu stanoviště než jaká ve skutečnosti byla. Rozvoj molekulárních metod v dnešní době umožňuje odhalit i druhy nekultivovatelné, pomalu rostoucí nebo určit druhy, které nesporulují (Lindahl a Boberg 2008). Význam těchto metod stoupá s doplňováním databází molekulárních dat (např. GenBank) o nové taxony.

V této práci bych chtěla poukázat na faktory, které mohou diverzitu ovlivnit. Mým cílem nebylo vytvořit přehled druhů kolonizujících opad.

2.1 Kolonizace jehlice mikroskopickými houbami

Řada druhů mikroskopických hub do jehlic pronikne jako *endofyté* ještě na stromě. Endofyté jsou vysoce různorodá polyfyletická skupina (hlavně askomycety), která je funkčně definována jejich přítomností v asymptomatických pletivech rostlin (Arnold 2007). Můžeme je najít prakticky u všech rostlinných druhů (Saikkonen *et al.* 1998). Nevykazují žádné znaky přítomnosti ani symptomy choroby. Jejich ekologická role v jehličnanech není zcela jasná (Korkama-Rajala *et al.* 2008), ale jejich sekundární metabolity v interakci s obrannými metabolity rostliny nejspíš vytváří účinnou rovnováhu chemických látek, které brání vstupu patogenů (Schulz *et al.* 2002). Uvnitř jehlic se vyskytují i houby, které původně byly *epifyty*. Ty z povrchu jehlice dovnitř prorostou za vhodných podmínek tj. nástup senescence (např. *Alternaria* sp., *Cladosporium cladosporioides* a *C. herbarum*) (Przybył *et al.* 2008) a po opadu jehlice na zem.

2.2 Vliv druhu dřeviny

Rozdíly v přítomnosti některých druhů mikroskopických hub bývají především mezi rody jehličnanů, jednotlivé druhy jehličnanů mezi sebou nemívají významné odchylky. To prokázaly práce Tokumasu (1998) na opadu *Pinus densiflora*, *P. sylvestris*, *P. strobus*, *P. banksiana* a *P. rigida* a práce Widden a Parkinson (1973) na opadu *P. strobus*, *P. contorta*, *P. banksiana* a *P. resinosa*. Mitchell *et al.* (1978) se domnívali, že určité rozdíly mykoflóry na různých druzích borovic mohou být způsobeny anatomickou stavbou jehlic (větší tloušťka kutikuly, lignifikované lamely). Při rozsáhlé studii na 23 jehličnanech z různých částí Evropy byly zjištěny preference askomycetů, kteří osidlují stomata jehlic. Druh *Thysanophora penicillioides* kolonizoval jehlice rodu *Abies*, *Picea*, *Pseudotsuga* a *Tsuga*, zatímco druh *Verticicladium trifidum* byl omezen na *Pinus* a *Cedrus*. Někdy stomata okupovaly další druhy: *Cladosporium* spp. a *Alternaria alternata* na jehlicích *Pinus pinea*, druh *Chaetopsina fulva* byl nalezen pouze na jehlicích *Pseudotsuga* a druh *Thysanophora canadensis* pouze na *Picea* (van Maanen a Gourbière 1997). Některé poznatky nelze zobecnit, preference pro určité hostitele jsou jen přibližné a nekompletní. Rozhodujícím faktorem výskytu druhů jsou spíše mikroklimatické podmínky stanoviště, jelikož na diverzitu endofytů jehlice může mít vliv např. i vzdálenost jehlic od země nebo postavení větví ke světovým stranám (Müller a Hallaksela 2000).

Mikrobiální komunitu může dokonce ovlivnit míra růstu stejně starých klonů stromu. V pokusu se smrkem měly stejné klony s různou výškou kmene odlišné společenstvo ektomykorhizních hub, na které se vázala odlišná společenstva bakterií. Takové změny se už mohou projevit na půdní komunitě jako celku (Korkama *et al.* 2007). Korkama-Rajala *et al.* (2008) také porovnávali dekompozici a diverzitu hub pod osmi různými klony smrku. Klony se ale v těchto směrech v podstatě nelišily. Pouze v laboratorní části, v které byly zahrnuti pouze endofyté, byl častější druh *Lophodermium piceae* na rychle rostoucích klonech.

2.3 Vliv abiotických podmínek stanoviště

2.3.1 Meteorologické podmínky

Vlhkostní podmínky mohou u některých druhů hub striktně souviset s jejich rozšířením nebo ovlivňovat jejich rozmnožování. Větší diverzita hub je obecně spojena s vyšší vlhkostí. Opad ve vlhčím smíšeném lese je charakterizován mírně vyšším počtem izolátů a vyšší diverzitou oproti lesu jehličnatému (Przybył *et al.* 2008). Teplota a vlhkost půdy také mohou nepřímo ovlivnit houby skrz funkci stromů (metabolické procesy, fenologie, rezistence vůči patogenům).

Ovlivnění diverzity teplotou záleží na optimu daných druhů. Například rod *Mortierella* je tolerantní k nízkým teplotám, naopak rod *Trichoderma* roste v chladu špatně (kromě druhů *T. viride* a *T. polysporum*) (Söderström a Bååth 1978). Ve studii Goubière *et al.* (2001) frekvence dvou raných kolonizátorů, *Lophodermium pinastri* a *Cyclaneusma minus*, vzrůstala s nadmořskou výškou z 10 na 80 %. Frekvence druhu *Verticicladium trifidum* klesala se vzrůstající nadmořskou výškou z 90 na 0 %. Druh *L. pinastri* je ve více pravech označován jako druh vlhčích stanovišť (Hirose a Osono 2006, Sieber 1988), které spíše souvisí s vyšší nadmořskou výškou, ale není to pravidlem.

Také během sezón roku dochází vlivem počasí ke střídání druhů na jehlici. Při sukcesních pokusech na *Pinus densiflora* (Tokumasu 1998) se jako první objevila *Thysanophora penicillioides* a různé druhy rodu *Trichoderma* během všech částí roku. Druhy *T. polysporum* a *T. viride* byly přítomny v chladnějších měsících, v teplejších částech roku je vystřídaly *T. hamatum*, *T. koningii* a *T. longipilis*. Na podzim byly běžné tři demaciové² houby tj. *Chloridium viride* var. *chlamydozporis*, *Sporodesmium omahutaense* a *Chalara* sp., které způsobují tmavnutí jehlic. V druhé polovině roku také vzrostlo množství běžných druhů rodů *Mortierella* a *Penicillium*.

Mikroskopické houby, které využívají vysoce kvalitní substráty, se objevují po disturbancích jako je vyschnutí/zamokření nebo zmrznutí/tání. Takové změny vedou k senescenci mycelia bazidiomycetů, čímž se uvolní velké množství živin, které jejich mycelium kumuluje (Lindahl *et al.* 2002).

² Demaciové (mycelium, spory, atd.) = pigmentované, více či méně tmavé (Kirk *et al.* 2001)

Vlivem nepříznivých meteorologických podmínek může dojít k napadení stromu škůdcem. Pokud se patogeni jehličnanů lokálně přemnoží, a strom poškozují, má to zásadní vliv na fyziologii stromu. Ta dále působí na své endofytické společenstvo hub.

Kalamitě kůrovce v Polsku předcházela velká vedra, která nejspíš snížila vitalitu stromů. Sucho a kůrovec zdvojnásobili produkci opadu, včetně opadnutí mladých jehlic. Diverzita hub se poté snížila více než o polovinu vůči stavu před kalamitou. Autoři pokusu to odůvodňují nedostatečnou zralostí jehlic, které možná endofyty nestačily osídlit (Przybył *et al.* 2008).

2.3.2 Znečištění

Znečištění prostředí na houby působí jak negativně tak pozitivně, ale negativní vliv pravděpodobně převládá. Výsledný stupeň disturbance závisí na koncentraci a dostupnosti polutantu a na citlivosti jednotlivých druhů hub. Dostupnost toxické látky v prostředí je mnohdy opomíjena, přitom v půdě se jejich vlastnosti můžou změnit navázáním na jiné složky půdy nebo můžou být degradovány právě mikrobiálním společenstvem. Zdá se, že znečištění půdy kovy nemá na mnohé druhy hub vliv, protože jsou vůči nim rezistentní nebo tolerantní. Ale i přesto se diverzita snižuje ve prospěch ubikvitních půdních hub (*Cladosporium* sp., *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, ...). Podobné trendy jsou vidět i na jehlicích vystavených kovům (Gadd 2007a) a kyselinotvorným oxidům z ovzduší.

Barklund a Rowe (1983) zaznamenali nízkou frekvenci druhu *Lophodermium piceae* (v práci zmíněn jako „*endophyte A*“) v areálech s velkým množstvím kyselých dešťů. Podobný vliv byl odhalen při monitoringu hub smrkového opadu v Norsku. Druh *Tiarosporella parca* byl vždy nalezen pouze v malých množstvích, ale v Pasviku, na severovýchodě země byl tento druh spíše běžný a nahrazoval jinak častý druh *L. piceae*. V době experimentu nejspíš do oblasti přicházely siričité emise z blízkého průmyslového města, které ovlivnily koexistenci těchto druhů (Solheim 1989).

Podle Barklund a Unestam (1988) kyselý déšť napomáhá patogennímu druhu *Gremmeniella abietina* v napadení smrku. Kyselý déšť redukuje normální endofytické a epifytické společenstvo, které zřejmě zamezuje kolonizaci patogenem. Podobné studie s kyselým deštěm provedl také Ranta a Neuvonen (1994) a Ranta *et al.* (1995). Jejich výsledky se do určité míry shodují s prací Barklund a Unestam (1988), ale nejsou signifikantní. Znečištění průmyslovými emisemi způsobuje u některých druhů pokles, u jiných vzrůst abundance, společenstvo se mění. U druhů, na které emise působí negativně, se patrně jedná o toxický efekt

ovlivňující klíčení spor (může záviset na pH povrchu jehlice), růst a fruktifikaci (Košlataj *et al.* 2000).

2.4 Vliv biotických faktorů

2.4.1 Kompetice s dalšími mikroorganismy

Houby se při kolonizaci prostoru dříve nebo později setkávají s organismy jinými, vytváří se pak mezi nimi různé vztahy, ale většinou se jedná o kompetici (Boddy 1999).

Kompetice je interakce mezi organismy, kteří spolu soupeří o určitý zdroj.

Makroekologové rozeznávají buď interferenční nebo exploatační kompetici. Při exploatační kompetici jeden organismus využívá zdroje a tím snižuje jeho dostupnost organismům jiným. Jelikož je pro houby jejich životní prostor také jejich živinovým zdrojem, dají se obě kompetice jen těžko oddělit (Boddy 1999). Na všech soupeřích se může projevit negativně. Při kompetici mezi různými druhy hub hovoříme o kompetici mezidruhové, ale mohou kompetovat i jednotlivé kmeny mezi sebou tj. vnitrodruhová kompetice. Dále lze vyčlenit kompetici primární, kdy záleží na tom, kdo rychleji obsadí nový substrát a kompetici sekundární, kdy se jedná o to, kdo na substrátu přežije. Síla kompetice závisí jak na druzích, tak na daných kmenech hub a abiotických faktorech.

Nejsilnější kompetici lze pozorovat především u saprotrofních a ektomykorhizních bazidiomycetů. Nicméně i u askomycetů jsou známé příklady. *Lophodermium pinastri* při kompetici proti ostatním druhům, a dokonce i proti odlišným kmenům svého druhu, vytváří typické černé proužky na jehlicích ohraničujících místa střetu mycelií (Hirose a Osono 2006).

Rod *Trichoderma* patří mezi první houby, které obsadí opad, jakmile dopadne na zem. Předpokládá se, že jejich kompetitivní vlastnosti závisí na míře růstu, který ovlivňuje teplota. Widden a Scattolin (1988) popsali druhy *T. hamatum* a *T. koningii* jako agresivní a hůře přístupné nahrazení než druhy *T. viride* a *T. polysporum*. Poslední dva zmíněné naopak lépe přežívají v nízkých teplotách a uvádí se jako stres-tolerantní.

Verticicladium trifidum je typický saprotrof, kolonizující jehlice v opadu. Může být silným kompetitorem, pokud jehlici osídlí jako první, respektive dříve než začne předchozí kolonizátor fruktifikovat. Při sledování interakcí druhů *V. trifidum* s *Lophodermium pinastri* a *Cyclaneusma minus*, se ukázalo, že ve vysokých nadmořských výškách frekvence *V. trifidum*

silně závisí na kolonizaci jehlic těmito druhy (Goubière *et al.* 2001). V nízkých nadmořských výškách možná nízká humidita zpomaluje fruktifikaci *L. pinastri*, tím se časně vyvine *V. trifidum* a dále brání ve vzniku plodnic *L. pinastri*. Ve vysokých nadmořských výškách *L. pinastri* fruktifikuje skoro vždy a frekvence *V. trifidum* se výrazně snižuje. Tento případ ukazuje na součet vlivů klimatických a kompetičních.

Kompetitivní druhy hub zaujímají strategii agresivity nebo obrany. Obranné strategie mohou spočívat např. ve tvorbě tlustostěnného mycelia jako je to u druhu *Scleroconidioma sphagnicola* (Koukol *et al.* 2006).

2.5 Sukcese

Sukcesí hub v jehličnatém opadu se vědci zabývali hlavně v 60. a 70. letech 20. století (Kendrick a Burges 1962; Hayes 1965), většina prací z té doby je ale zatížena nepřesnostmi izolačních technik. Jak už bylo uvedeno, tyto metody nepokryjí diverzitu úplně a dnes je potřeba starší výzkum doplnit metodami molekulárními.

Při počáteční kolonizaci je substrát obvykle chemicky heterogenní a proto podporuje přítomnost různých skupin hub. Jak ale dekompozice postupuje, zbydou pouze těžko rozložitelné látky, pro které je třeba specializovaných druhů. Tím se diverzita snižuje.

Za časné kolonizátory se tedy považují druhy využívající rozpustné uhlovodíky (cukry), které nahradí druhy schopné rozložit uhlíkaté látky jako je celulóza a lignin (Dighton 2007). Ponge (1991) rozdělil kolonizaci jehlic borovice lesní (*Pinus sylvestris*) do čtyřech fází (tab. 1). Nejdříve je jehlice v malé míře pozměněna houbami z jejího povrchu, při osídlení dalšími druhy zhnědne a jsou rozloženy relativně dostupné látky. Následuje fáze větší invaze rostlinného pletiva mikroskopickými houbami a bazidiomycety. Poté se přidají půdní členovci a v poslední fázi jehlici prostoupí mykorrhizní houby.

Tab. 1: Sukcese hub na jehlicích borovice lesní (*Pinus sylvestris*) vzhledem ke změnám zdroje během dekompozice (Ponge 1991, převzato z Dighton 2007)

Stage of decompositions	Fungal species	Litter characteristics
Phase I	<i>Lophodermium</i> and <i>Ceuthesopra</i>	Browning of cellulose walls, cytoplasm missing and replaced by hyphae
Phase II	<i>Verticillum</i> , <i>Marasmius</i> and <i>Cenococcum</i>	Melanized hyphae through stoma. Hyaline hyphae invade xylem tracheids and resin ducts. Lignocellulose walls disrupted
Phase III	<i>Cenococcum</i>	Invades fecal pellets of mites and enchytraeids as soil fauna, bacteria and algae invade
Phase IV	<i>Cenococcum</i> and <i>Hyphodontia</i>	Penetration by mycorrhizal fungi. Needles become hollow

* rod *Verticicladium* Dighton zaměnil za *Verticillum*

V prvních fázích dekompozice převažují na opadu askomycety. Na opadu borovice lesní je to *Lophodermium pinastri*, *Sydowia polyspora*, druhy z čeledi Hyaloscyphaceae a další druhy z řádu Helotiales. Tyto druhy postupně mizí během prvního roku (Lindahl a Boberg 2008). Na smrkovém opadu se první rok až dva v hojné míře vyskytuje i druh *Scleroconidioma sphagnicola* (Koukol *et al.* 2006, Lindahl a Boberg 2008).

I ve fázi dekompozice celulózy můžou askomycety na jehličí čítat 50-70 % z celkového počtu taxonů. Podle DNA analýz opadu se jedná buď o třídu Leotiomycetes (hlavně čeleď Hyaloscyphaceae z řádu Helotiales) nebo Dothideomycetes.

V poslední fázi, kdy je vyčerpán zdroj celulózy pro saprotrofy, získávají výhodu mykorhizní houby, které jsou podporovány asimiláty hostitelské rostliny. Zejména ektomykorhizní bazidiomycety a askomycety z řádu Helotiales, avšak jiné druhy než v předchozích fázích sukcese (Lindahl a Boberg 2008)

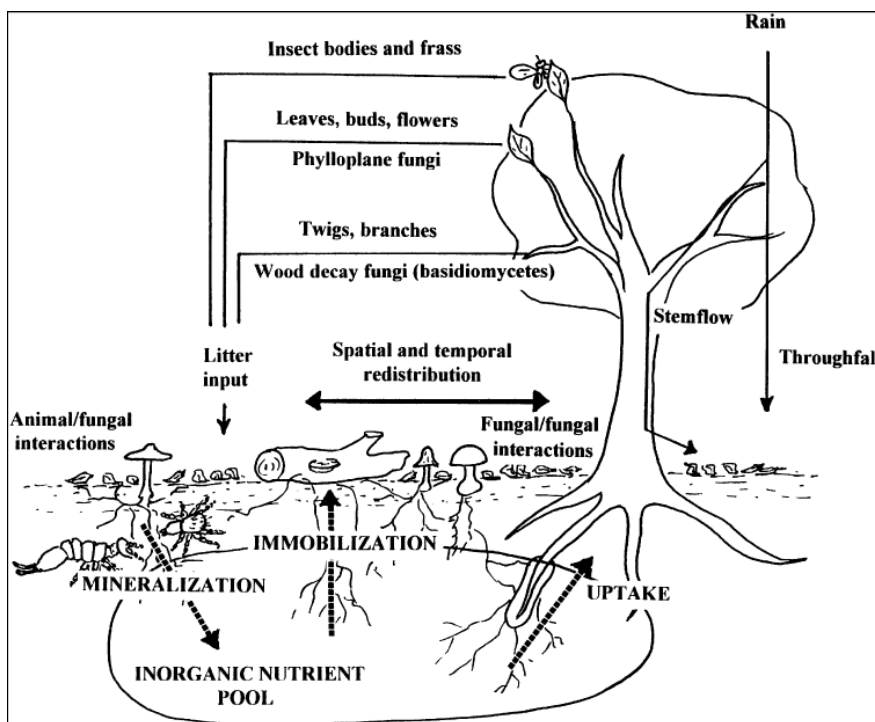
Sukcese není způsobena jen dostupností určitých substrátů, ale také přítomností určitých látek s inhibiční funkcí v jehlicích např. taninů. Taniny nemají vliv na druhy kolonizující senescentní jehlici, ale inhibují druhy vstupující až v pozdějších stádiích dekompozice, kdy jsou taniny už vyplavené (Savoie a Gourbière 1988).

3 Funkce mikroskopických hub v opadu

Mikroskopické houby jsou z hlediska funkcí zatím probádány jen částečně, obecné charakteristiky funkce hub v půdě jsou prováděny především na základě studia bazidiomycetů (obr. 1). Nicméně mikroskopické houby se v určité míře účastní skoro všech hlavních procesů.

V jehličnatých lesích se saprotrofní houby starají spíše o navrácení půdního uhlíku do atmosféry, ztráty dusíku z půdy a jeho transport do rostlin ve větší míře zajišťují mykorrhizní houby. Většina mykorrhizních hub disponuje některými schopnostmi saprotrofů a produkují například proteázy a polyfenol oxidázy, které mobilizují živiny v komplexních organických formách (Lindahl a Boberg 2008).

Askomycety a Zygomycety se v koloběhu uhlíku starají o prvotní rozkladné procesy, a někteří zástupci jsou schopni rozkládat i složité molekuly. Askomycety dokáží vázat polyfenolické látky do huminových sloučenin a celkově mikroskopické houby přispívají k výživě půdní fauny.



Obr. 1: Diagram cyklu živin v lesních ekosystémech a role hub v těchto procesech (Dighton 2007)

3.1 Dekompozice opadu

Proces dekompozice začíná už na stromě, na povrchu jehlic, když je navozena senescence, a postupně pokračuje v opadu, v půdě a organických horizontech, kde houby interagují s bakteriemi a půdní faunou (Dighton 2007). U endofytů jsou známé lipolytické aktivity, takže v prvních fázích kolonizace nejspíš zbavují jehlici kutikulárních vosků. Bazální část a čepel jehlice neosidlují stejné houby. Houby z bazální části mají širší rozsah enzymatických aktivit a umí využít i složitější uhlovodíky jako je celulóza (Carroll a Petrini 1983). Samotná komunita endofytů, kteří v opadu přejdou na saprotrofní způsob života, je schopna v laboratorních podmínkách rozložit 35-45 % původní biomasy během dvou let (Korkama-Rajala *et al.* 2008).

Za hlavní skupinu dekompozitorů opadu se považují bazidiomycety. U mikroskopických hub se předpokládá nedostatečný enzymatický aparát pro všechny organické složky opadu. Jejich role by mohla spočívat v přípravě substrátu pro vstup bazidiomycetů.

Z hlediska celulózy Osono *et al.* (2003) při dekompozičních pokusech na jehličí modřínu (*Larix leptolepis*) poukázal na to, že bazidiomycety nemusí být vždy lepší dekompozitoři (Allison *et al.* 2009). Úbytek biomasy způsobený bazidiomycety nebyl signifikantně odlišný od askomycetů. Tyto dvě skupiny se ale lišily v tom, které látky rozkládaly. Bazidiomycety rozkládaly lignin a uhlovodíky v různém poměru, askomycety rozkládaly výhradně uhlovodíky, ale ve větší míře (průměrná ztráta uhlovodíků způsobená bazidiomycety 14,5 % a askomycety 23,4 %).

Polyfenolické sloučeniny, taniny z čerstvého opadu nebo produkty rozkladu ligninu, tvoří dohromady s dusíkatými sloučeninami (proteiny, chitin,...) rekalitrantní látky. Takto je i více jak polovina dusíku během dekompozice zabudována do polyfenolické frakce opadu. Rozklad ligninu je velmi náročný na energii a neexistují organismy, kteří by ho využívaly jako jediný zdroj uhlíku. Lignin degradují hlavně bazidiomycety a umožňují tak lepší přístup k lignocelulóze. Lignolytický enzymový systém slouží také k odbourávání humifikovaných polyfenolických sloučenin, což zvýší uvolnění dusíku spíše než uhlovodíků. Vložená energie se proto houbám rozkládajícím lignin vyplatí (Lindahl a Boberg 2008).

Mezi askomycety je málo druhů, kteří rozkládají lignin. Osono (2007) vytvořil přehled bazidiomycetů a askomycetů, u kterých byla již zaznamenána ligninolytická aktivita. Přehled čítá 31 rodů bazidiomycetů a pouze 8 rodů askomycetů (včetně anamorf v tab. 2). Navíc se zdá, že v jehličnatém opadu askomycety rozkládají lignin minimálně. Je to částečně přisuzováno

přítomnosti guaiacyl ligninu v pletivu nahosemenných rostlin, který je více rekalcitranční než guaiacyl-syringyl lignin přítomný u krytosemenných rostlin (Osono 2007). Znamé askomycety rozkládající lignin jsou druhy z čeledi Xylariaceae, ale většinou se jedná o dekompozici dřeva nebo opadu listnatých dřevin. Na jehlicích byl nalezen druh *Hypoxylon terricola* (Whalley 1996). Běžné půdní a opadové anamorfní rody jako *Aspergillus* a *Penicillium* mají oproti bazidiomycetům nízké ligninolytické aktivity (Osono 2007).

Výzkum ohledně dekompozice ligninu askomycety je nedostatečný a je otázkou, zda všechna prostředí poskytují optimální podmínky pro houby bílé hniloby, které rozkládají všechny složky lignocelulózy. Možná existují stále neodhalené druhy askomycetů, které disponují potřebnými enzymy. Před několika lety byla zjištěna produkce lignin peroxidázy a mangan peroxidázy u askomyceta *Coniochaeta ligniaria* (anamorfa *Lecythopora*), která je ve srovnání s ostatními askomycety úspěšnější v degradaci lignocelulózy (Lopez et al. 2007).

Tab. 2: Rody askomycetů (včetně anamorfního stadia) u kterých byla zaznamenána schopnost rozkládat lignin v opadu a v dalších rostlinných materiálech lesa (podle Osono 2007)

askomycet	řád	metoda
<i>Alternaria</i>	<i>Pleosporales</i>	E
<i>Aspergillus</i>	<i>Eurotiales</i>	E, M
<i>Coccomyces</i>	<i>Rhytismatales</i>	B, L
<i>Fusarium</i>	<i>Hypocreales</i>	E, M
<i>Geniculosporium</i>	<i>Xylariales</i>	B, L
<i>Penicillium</i>	<i>Eurotiales</i>	E, L, M
<i>Pestalotiopsis</i>	<i>Xylariales</i>	E, M
<i>Xylaria</i>	<i>Xylariales</i>	B, L

Legenda: B= schopnost bělení v přírodě, E= produkce enzymů v laboratoři (mangan peroxidáza, lakáza), L= úbytek ligninu v listech v laboratoři, M= mineralizace ligninu a příbuzných sloučenin v laboratoři, řád dle www.biolib.cz

3.1.1 Enzymy hub a jejich změny v aktivitě

Jelikož je dekompozice výsledkem enzymatické aktivity, záleží na enzymatické výbavě jednotlivých hub, jaké látky budou rozkládat. Pokud však nastanou nevhodné podmínky pro funkci enzymů sníží se dekompozice i přes bohaté společenstvo hub. V jehličnatém opadu se jedná hlavně o hemicelulózy, celulózy (endocelulóza, exocelulóza, β -glukosidáza), celobiázy

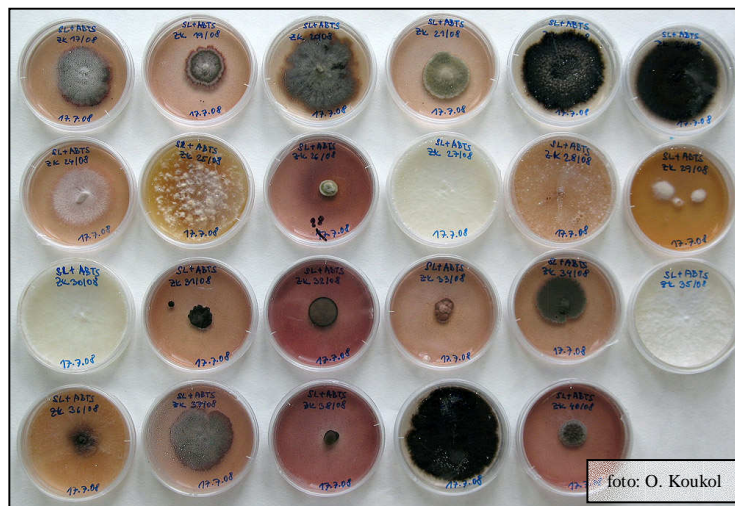
(celobiózo-oxidáza, celobiózo-dehydrogenáza) a ligninolytické enzymy (mangan peroxidáza, lignin peroxidáza, lakáza) (Baldrian 2006; Šnajdr *et al.* 2008)

Hemicelulózy a celulózy askomycet jsou nejlépe popsány u rodu *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium* a *Humicola* (Rabinovich *et al.* 2002). Aktivita celulózy může být pozitivně ovlivněna teplotou a nebo poměrem celulóza:lignin. Zdá se, že pokud tento poměr klesne pod hladinu 0,5, přestane být celulóza pro mikrobiální potřebu dostupná (Dighton 2007). Rozklad uhlovodíků je při nízké teplotě zpomalen. Některé askomycety již při 10°C přestaly rozkládat opad jedle (*Abies*), např. *Trichoderma viride*, *Chalara longipes*, *Aureobasidium pullulans* (Osono a Takeda 2006).

Enzymová aktivita je také regulována dostupností dusíku a fosforu. Pokud je některý výživový prvek méně dostupný, houby musí vynaložit více energie do produkce enzymů (Dighton 2007). Přídavky dusíku zvyšují jak respiraci hub, tak jejich biomasu a váhové úbytky opadu, což indikuje omezení dekompozice nízkou dostupností dusíku (Lindahl a Boberg 2008). Zvýšenou respiraci zaznamenal i Allison *et al.* (2009) po přidání 20 µg dusíku. Přidání 200 µg dusíku už ale nemělo na respiraci vliv oproti vzorkům bez dusíku. Respirace vzrostla jenom u celulózy a dřeva, které mají vlastní koncentraci dusíku nízkou. Naopak enzymatická aktivita β-glukosidázy a N-acetyl-glukosaminidázy druhu *Penicillium* sp. na smrkovém jehličí rapidně vzrostla po přidání 200 µg dusíku (Allison *et al.* 2009). Aktivita ligninolytických enzymů po přidání dusíku klesá. Dodání dusíku zvenčí brání rozkladu složitějších látek (Lindahl a Boberg 2008).

Enzymatický systém pro rozklad ligninu u askomycetů zatím není dobře prozkoumán (Osono 2007). Produkce lakázy u půdních askomycetů se udává u rodů *Aspregillus*, *Curvularia* a *Penicillium*. V jehličnatých lesích je lakáza dominantním ligninolytickým enzymem. Její produkce může klesat se vzrůstajícími dávkami dusíku nebo vzrůstat při vyšší míře polyfenolických sloučenin (Baldrian 2006). Sama jsem pozorovala aktivitu lakázy u vybraných izolátů hub ze smrkového opadu (obr. 2). Některé askomycety měly silnou barevnou reakci na médiu s 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonovou kyselinou (ABTS), což značí produkci lakázy (tmavě fialová), naopak některé bazidiomycety neprokazovaly žádnou aktivitu lakázy.

Obr. 2: Reakce vybraných kmenů hub izolovaných z opadu *Picea abies* na agarovém médiu s ABTS. Fialová barva indikuje produkci lakázy. (Kolářová, nepubl.)



3.2 Další role v koloběhu živin

3.2.1 Askomycety a jejich vztah k huminovým sloučeninám a xenobiotikům

Huminové sloučeniny, tj. huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy, jsou hlavním rezervoárem uhlíku v biosféře a jsou velmi důležité pro mnoho procesů v přírodě. Vznikají při rozkladných procesech a transformaci organických látek a jsou vysoce stabilní (poločas rozpadu může být stovky i tisíce let). Ale jejich stabilita závisí na hloubce a typu půdy, např. v borovicovém opadu je poločas rozpadu huminových kyselin pouze 5,1 roku (Grihnut *et al.* 2007). Jak naznačují studie týkající se globálního oteplování, ztráty uhlíku z půdy způsobené rozkladem huminových sloučenin houbami by se mohly s oteplováním zvyšovat.

Mangan peroxidáza se považuje za klíčový enzym v rozkladu a mineralizaci huminových kyselin. Tento enzym byl prokázán u půdních askomycetů *Alternaria alternata*, *Phoma* sp., *Clonostachys rosea*, *Paecilomyces lilacinus* (Grihnut *et al.* 2007). Koukol *et al.* (2004) prokázali schopnost rozkládat huminové kyseliny z opadu *Picea abies* u druhu *Chalara longipes*. Askomycety jsou ale spíše zapojeny do modifikace a polymerizace huminových sloučenin. Druhy *Epicoccum nigrum*, *Eurotium echinulatum*, *Hendersonula toruloidea* a *Aspergillus sydowi*

jsou schopny za určitých podmínek syntetizovat huminové kyseliny z fenolických látek (Grihnut *et al.* 2007).

Někteří vědci považují mikroskopické houby za významné vzhledem k produkci melaninů. Melaniny jsou tmavé polymery produkované mnoha půdními houbami. Huminovým kyselinám jsou v určitých vlastnostech podobné, také jsou velmi stabilní (Zavgorodnyaya *et al.* 2002).

Xenobiotika jsou cizorodé látky v přírodě, které vznikly činností člověka. Degradují je hlavně houby bílé hniloby, u vláknitých hub byla tato schopnost zaznamenána v malém množství. Z neligninolytických hub se na bioremediaci polycyklických aromatických uhlovodíků (PAHs) podílí např. *Mucor*, *Fusarium* a *Penicillium* spp. (Gadd 2007a).

3.2.2 Mikroskopické houby jako potravní zdroj

Mikroskopické houby tvoří potravu pro další půdní mikroorganismy a bezobratlé živočichy. Jako potrava může sloužit jak jejich mycelium, tak produkty dekompozice.

Předpokládá se, že houbové exudáty slouží jako hlavní nebo dokonce výhradní zdroj živin pro bakterie, které žijí na povrchu hyf, spor, v okolí mykorhizních kořenů a uvnitř plodnic. Víme, že tyto bakterie využívají zásobní cukry (např. trehalóza), polyalkoholy (např. mannitol) a organické kyseliny (např. kyselina šťavelová). Přístup k těmto látkám mohou některé houby korigovat vylučováním antibiotik, takže společenstvo bakterií je v jejich blízkosti pozměněno vůči okolí (de Boer 2005).

Mycelium vláknitých hub požírá půdní meso a makro fauna. Během třetí fáze dekompozice opadu (Ponge 1991) jehlice kolonizují pancířníci, chvostokoci, roupice, hlístice, larvy z čeledi *Sciaridae* a kroužkovci, kteří se mimo jiné živí i houbami. Většina těchto druhů dává přednost houbám s melanizovaným myceliem, které najdeme spíše u mikroskopických hub než u bazidiomycetů. Tzv. demaciózní houby jsou heterogenní skupinou hub nefylogenetického původu (Maroun *et al.* 2003). Na jehličnatém opadu jsou to např. *Sympodiella acicola*, *Verticicladium trifidum*, *Hormonema dematioides*, *Allantophomopsis lycopodina*, *Scleroconidioma sphagnicola* a další (Koukol *et al.* 2009).

4 Závěr a výhledy diplomové práce

Diverzita i funkce mikroskopických hub zůstává zatím nedostatečně prozkoumána. Je to dáno jak dosavadní nedostatečnou metodikou studia, tak větším důrazem kladeným na bazidiomycety. Nejlepší informace jsou zatím jen o běžných a patogenních druzích, proto jsou příklady hub v mé práci často z těchto skupin.

Mikroskopické houby jsou důležité v uvolňování i fixaci uhlíku, ale v jaké míře se těchto procesů účastní, bude muset odhalit budoucí výzkum. Jejich diverzita je dána souhrou mnoha faktorů.

V mé diplomové práci se hodlám zabývat spektrem mikroskopických hub na opadu smrku ztepilého (*Picea abies*). Moje práce by měla napomoci projektu GAČR 526/08/0751 (Mikrobiologický ústav AVČR, Biologická fakulta JČÚ), který sleduje změny v půdních procesech a v mikrobiálním společenstvu po kůrovcové kalamitě. Lokalita pokusu byla postižena kůrovcem a charakter opadu je tedy jiný než v přirozeném lese. Izoláty hub budu identifikovat pomocí klasických morfologických metod a budu je doplňovat o molekulární data (izolace DNA, GenBank). U frekventovanějších izolátů bych chtěla sledovat enzymatickou aktivitu lakázy.

5 Přehled použité literatury

- Allison, S., LeBauer, D., Ofrecio, R., Reyes, R., Ta, A., Tran T. (2009): Low levels of nitrogen addition stimulate decomposition by boreal forest fungi. – *Soil Biology & Biochemistry* 41, 293–302.
- Arnold, A. (2007): Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. – *Fungal Biology Reviews* 21, 51-66.
- Baldrian, P. (2006): Fungal laccases – occurrence and properties. – *FEMS Microbiology Reviews* 30, 215-242.
- Bardgett, R. (2005): The soil environment. – In: *The biology of soil: A community and ecosystem approach.*, Oxford University Press, pp. 242.
- Barklund, P., Rowe, J. (1983): Endophytic fungi in Norway spruce – possible use in bioindication of vitality. – *Aquilo Series Botanica* 19, 228-232.
- Barklund, P., Unestam, T. (1988): Infection experiments with *Gremmeniella abietina* on seedlings of Norway spruce and Scots pine. – *European Journal of Forest Pathology* 18, 409-420.
- Boddy, L. (1999): Interspecific combative interactions between wood-decaying basidiomycetes. - *FEMS Microbiology Ecology* 31, 185-194.
- Carroll, G., Petrini, O. (1983): Patterns of substrate utilization by some fungal endophytes from coniferous foliage. – *Mycologia* 75, 53-63.
- Dighton, J. (2007): Nutrient cycling by saprotrophic fungi in terrestrial habitats. – In: Kubicek, C., Druzhinina, I. (eds.) *The mycota IV*, Springer, pp. 350.
- de Boer, W., Folman, L., Summerbell, R., Boddy, L. (2005): Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. – *FEMS Microbiology Reviews* 29, 795-811.
- Gadd, G. (2007a): Fungi and industrial pollutants. - In: Kubicek, C., Druzhinina, I. (eds.) *The mycota IV*, Springer, pp. 350.
- Gadd, G. (2007b): Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. – *Mycological Research* 111, 3-49.

- Goubière, F., van Maanen, A., Debouzie, D. (2001): Associations between three fungi on pine needles and their variation along a climatic gradient. – *Mycological Research* 105, 1101–1109.
- Grihnut, T., Hadar, Y., Chen, Y. (2007): Degradation and transformation of humic substances by saprotrophic fungi: processes and mechanisms. – *Fungal Biology Reviews* 21, 179-189.
- Hayes, A. (1965): Studies on the decomposition of coniferous leaf litter. II. Changes in external features and succession of microfungi. – *European Journal of Soil Science* 16, 242-257.
- Hirose, D., Osono, T. (2006): Development and seasonal variations of *Lophodermium* populations on *Pinus thunbergii* needle litter. – *Mycoscience* 47, 242-247.
- Hršelová, H., Chvátalová, M., Vosátka, M., Klír, J., Gryndler, M. (1999): Correlation of abundance of arbuscular mycorrhizal fungi, bacteria and saprophytic microfungi with soil carbon, nitrogen and phosphorus. – *Folia Microbiologica* 44, 683-687.
- Hyde, K., Bussaban, B., Paulus, B., Crous, P., Lee, S., McKenzie, E., Photita, W., Lumyong, S. (2007): Diversity of saprobic fungi. – *Biodiversity and Conservation* 16, 7-35.
- Kendrick, W., Burges, A. (1962): Biological aspects of the decay of *Pinus sylvestris* leaf litter. – *Nova Hedwigia* 4, 313-342.
- Kirk, P., Cannon, P., David, J., Stalpers, J. (eds.) (2001): *Dictionary of the fungi*, CABI Publishing, pp. 655.
- Kořáta, H., Kowalski, T., Stańczykiewicz, A. (2000): Communities of endophytic fungi in twigs and needles of *Pinus sylvestris* affected to a different degree by air pollution. – *Phytopathologia Polonica* 19, 69-87.
- Korkama, T., Fritze, H., Kiikkilä, O., Pennanen, T. (2007): Do same-aged but different height Norway spruce (*Picea abies*) clones affect soil microbial community? – *Soil Biology & Biochemistry* 39, 2420-2423.
- Korkama-Rajala, T., Müller, M., Pennanen, T. (2008): Decomposition and fungi of needle litter from slow- and fast-growing Norway spruce (*Picea abies*) clones. – *Microbial Ecology* 56, 76-89.
- Koukol, O., Gryndler, M., Novák, F., Vosátka, M. (2004): Effect of *Chalara longipes* on decomposition of humic acids from *Picea abies* needle litter. – *Folia Microbiologica* 49, 574-578.

- Koukol, O., Mourek, J., Janovský, Z., Černá, K. (2009): Do oribatid mites (Acari: *Oribatida*) show a higher preference for ubiquitous vs. Specialized saprotrophic fungi from pine litter? – *Soil Biology & Biochemistry*, doi:10.1016/j.soilbio.2009.02.018.
- Koukol, O., Mrnka, L., Kulhánková, A., Vosátka, M. (2006): Competition of *Scleroconidioma sphagnicola* with fungi decomposing spruce litter needles. – *Canadian Journal of Botany* 84, 469-476.
- Lindahl, B., Boberg, J. (2008): Distribution and function of litter Basidiomycetes in coniferous forests. – In: Boddy, L., Frankland, J., van West, P. (eds.) *Ecology of saprotrophic Basidiomycetes*, Academic Press, pp. 372.
- Lindahl, B., Taylor, A., Finlay, R. (2002): Defining nutritional constraints on carbon cycling in boreal forests – towards a less ‘phytcentric perspective’ perspective. – *Plant and Soil* 242, 123-135.
- Lopez, M., Vargas-García, M., Suárez-Estrella, F., Nichols, N., Dien, B., Moreno, J. (2007): Lignocellulose-degrading enzymes produced by the ascomycete *Coniochaeta ligniaria* and related species: Application for a lignocellulosic substrate treatment. – *Enzyme and Microbial Technology* 40, 794-800.
- Maroun, M., Martens, H., Migge, S., Theenhaus, A., Scheu, S. (2003): Adding to the ‘enigma of soil animal diversity’: fungal feeders and saprophagous soil invertebrates prefer similar food substrates. – *European Journal of Soil Biology* 39, 85-95.
- Mitchell, C., Millar, C., Minter, D. (1978): Studies on decomposition of Scots pine needles. – *Transactions of the British Mycological Society* 71, 343-348.
- Müller, M., Hallaksela, A. (2000): Fungal diversity in Norway spruce: a case study. – *Mycological Research* 104, 1139-1145.
- Osono, T. (2007): Ecology of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition. – *Ecological Research* 22, 955-974.
- Osono, T., Fukasawa, Y., Takeda, H. (2003): Roles of diverse fungi in larch needle-litter decomposition. – *Mycologia* 95, 820-826.
- Osono, T., Takeda, H. (2006): Fungal decomposition of *Abies* needle and *Betula* leaf litter. – *Mycologia* 98, 172-179.
- Ponge, J. (1991): Succession of fungi and fauna during decomposition of needles in a small area of Scots pine litter. – *Plant and Soil* 138, 99-113.

- Przybył, K., Karolewski, P., Oleksyn, J., Łabędzki, A., Reich, P. (2008): Fungal diversity of Norway spruce litter: Effects of site conditions and premature leaf fall caused by bark beetle outbreak. – *Microbial Ecology* 56, 332–340.
- Rabinovich, M., Melnik, M., Bolobova, A. (2002): Microbial cellulases. – *Applied Biochemistry and Microbiology* 38, 305–321.
- Ranta, H., Neuvonen, S., (1994): The host-pathogen system of *Gremmeniella abietina* (Lagerb.) Morelet and Scots pine; effects of non-pathogenic phyllosphere fungi, acid rain and environmental factors. – *New Phytologist* 128, 63–69.
- Ranta, H., Neuvonen, S., Ylimartimo, A. (1995): Interactions of *Gremmeniella abietina* and endophytic fungi in shoots of Scots pine trees treated with simulated acid rain. – *Journal of Applied Ecology* 32, 67–75.
- Saikkonen, K., Faeth, S., Helander, M., Sullivan, T. (1998): Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. – *Annual Review of Ecology and Systematics* 29, 319–343.
- Sánchez, J., Caselles, V., Niclòs, R., Coll, C., Kustas, W. (2009): Estimating energy balance fluxes above a boreal forest from radiometric temperature observations. – *Agricultural and Forest Meteorology* 149, 1037–1049.
- Savoie, J., Gourbière, F. (1988): Decomposition of cellulose by the species of the fungal succession degrading *Abies alba* needles. – *FEMS Microbiology Ecology* 62, 307–314.
- Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Römmert, A., Krohn, K. (2002): Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. – *Mycological Research* 106, 996–1004.
- Sieber, T. (1988): Endophytische Pilze in Nadeln von gesunden und geschädigten Fichten (*Picea abies* (L.) Karsten). – *European Journal of Forest Pathology* 18, 321–342.
- Solheim, H. (1989): Fungi on spruce needles in Norway. – *European Journal of Forest Pathology* 19, 189–191.
- Söderström, B., Bååth, E. (1978): Soil microfungi in three Swedish coniferous forests. – *Holarctic Ecology* 1, 62–72.
- Šnajdr, J., Valášková, V., Merhautová, V., Cajthaml, T., Baldrian, P. (2008): Activity and spatial distribution of lignocellulose-degrading enzymes during forest soil colonization by saprotrophic basidiomycetes. – *Enzyme and Microbial Technology* 43, 186–192.

- Tokumasu, S. (1978): Leaf litter fungi of the forests of *Pinus densiflora* and four introduced pines at Sugadaira, central Japan. – Transactions of the Mycological Society of Japan 19, 383-390.
- Tokumasu, S. (1998): Fungal successions on pine needles fallen at different seasons: the succession of surface colonizers. – Mycoscience 39, 417-423.
- van Maanen, A., Gourbière, F. (1997): Host and geographical distribution of *Verticicladium trifidum*, *Thysanophora penicilliodes*, and similar fungi on decaying coniferous needles. – Canadian Journal of Botany 75, 699-710.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E., Marra, R., Woo, S., Lorito, M. (2008): *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. – Soil Biology & Biochemistry 40, 1-10.
- Whalley, A. (1996): The xylariaceous way of life. – Mycological Research 100, 897-922.
- Widden, P., Parkinson, D. (1973): Fungi from Canadian coniferous forest soils. – Canadian Journal of Botany 51, 2275-2290.
- Widden, P., Scattolin, V. (1988): Competitive interactions and ecological strategies of *Trichoderma* species colonizing spruce litter. – Mycologia 80, 795-803.
- Zavgorodnyaya, Y., Demin, V., Kurakov, A. (2002): Biochemical degradation of soil humic acids and fungal melanins. – Organic Geochemistry 33, 347-355.