Opis projektu: „Mycorrhizal communities associated with monumental trees in the Bieszczady part of Polish Carpathian primal forests".

Władysław Polcyn, dr hab., prof. UAM
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Wydział Biologii, Zakład Fizjologii Roślin

Jesteśmy jednym z 31 zespołów, które uczestniczyły w roku 2023 w globalnym projekcie naukowym SPUN (Society for the Protection of Undreground Networks)[1]. Prowadziliśmy wyprawy do południowo-wschodniej części otuliny Bieszczadzkiego Parku Narodowego (BdPN), aby dostarczyć wiedzy o różnorodności gatunkowej żyjących tam społeczności grzybowych. W tym celu pobieraliśmy próbki glebowego DNA w ryzosferze (strefie korzeniowej) monumentalnych buków i jodeł. Drzewa te osiągnęły rozmiary pomników przyrody dlatego można spodziewać się, że zarówno one jak i mikroorganizmy występujące w glebie otaczającej ich najdrobniejsze korzenie, współżyją w zagęszczeniu, które można uznać za tzw. hot spoty bioróżnorodności lasów górskich tego regionu.

Główna idea SPUN skupia się na utworzeniu globalnej mapy hot spotów grzybów mykoryzowych, pobierając próbki w miejscach najmniej zakłóconych ingerencją człowieka. Ma to na celu inicjację globalnych działań ochronnych dla ekosystemów mykoryzowych. Są to grzyby symbiotyczne, centralnie ważne dla utrzymania kondycji roślin w ekosystemach lądowych, gdyż wchodzą z nimi w głębokie interakcje odżywcze, antystresowe, a nawet fitosanitarne[2]. Są one ponadto odpowiedzialne za zatrzymywanie w glebie węgla organicznego, który w świecie bez mykoryz uwalniałby się do atmosfery jako gaz cieplarniany w ilości odpowiadającej ok 36% rocznej emisji CO_2 ze spalania paliw kopalnych[3].

Nasz zespół identyfikował oprócz mykoryz także pozostałe grzybowe grupy ekologiczne żyjące w ryzosferze buków i jodeł, czyli inne gatunki symbiotroficzne, patogenne i saprofityczne. Każdy z tych gatunków jest integralną częścią ekosystemu glebowego, gdyż oddziałuje w skomplikowanych, a w większości nierozpoznanych jeszcze interakcjach, z roślinną częścią lasów. W projekt zaangażowane są także artystki z Uniwersytetu Artystycznego w Poznaniu, czyli prof. Joanna Hoffmann-Dietrich, Jadwiga Subczyńska i Maria Subczyńska. Brały one udział w naszych wyprawach, a ich artystyczna wrażliwość ma pomóc wszystkim osobom zainteresowanym naszymi działaniami poczuć się częścią świata Przyrody. Nasze środowiska współpracują ze sobą od lat w artystyczno-naukowo-edukacyjnym projekcie „Rhizosphere: The Big Network of Small Worlds". Na stronie www tego projektu zamieszczamy informacje o wspólnych ekspedycjach SPUN[4].

Próbki DNA pobieraliśmy podczas dwóch wizyt w Bieszczadach, w maju i październiku 2023. Badaliśmy 10 miejsc, odnajdując 35 buków i 35 jodeł o rozmiarach pomników przyrody, wskazanych nam przez Piotra Kluba, leśnika i aktywisty Fundacji Dziedzictwo Przyrodnicze. Piotr jest autorem mapy otuliny BdPN, zawierającej lokalizacje 3675 drzew o rozmiarach pomnikowych, z których my odwiedziliśmy tylko niektóre.

Drzewa te były w poprzednich latach narażone na zniszczenie w wyniku rabunkowej gospodarki leśnej, nie szanującej ich wartości przyrodniczej. Na szczęście tuż po zakończeniu naszych badań doszło do wielkiej zmiany politycznej w Polsce, dzięki której wprowadzono zakaz wycinania takich drzew w tym regionie. Czujemy dumę z tego, że włączyliśmy się w wieloletni wysiłek aktywistów i naukowców, który doprowadził w Polsce do historycznej zmiany w podejściu do ochrony ziemskiego

[1] https://www.spun.earth/expeditions/underground-explorers
[2] https://www.autoportret.pl/artykuly/lepiej-razem-niz-osobno-symbiotyczna-wyprawa-do-lasu/
[3] https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982223001677
[4] https://artscience-node.com/spun-mycorrhizal-wealth-of-carpathians/

dziedzictwa przyrodniczego. Teraz oczekujemy, że miejsca, które badaliśmy zostaną włączone do Bieszczadzkiego Parku Narodowego. Piotr Klub jest autorem kompleksowego opracowania, wskazującego listę miejsc, które powinny zostać objęte najwyższymi formami ochrony w Polsce[5].

Utrata różnorodności biologicznej jest uważana za jedno z największych zagrożeń, przed którymi stoi dziś ludzkość. Z tego powodu organizacje naukowe apelują o to, by grzyby zostały uznane jako cel ochrony bioróżnorodności Ziemi. Świat grzybów powinien być chroniony na równi ze zwierzętami i roślinami jako „trzecie F" – „flora, fauna & funga". Nasz zapis bogatej bioróżnorodności grzybowej może być użyty jako dane referencyjne dla innych bukowo-jodłowych lasów górskich. Można go użyć do oceny procesów degradacyjnych, np. związanych z presją gospodarki leśnej lub zmianami klimatycznymi, powodującymi wzrost średnich temperatur rocznych i osuszanie gleby

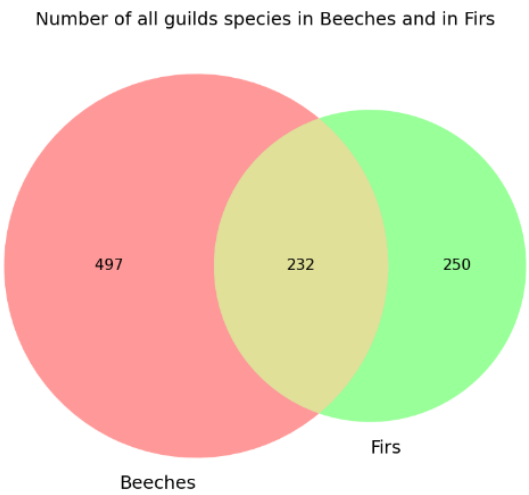
Inwentaryzację przyrodniczą prowadziliśmy metodami innymi niż tradycyjne, które mogły identyfikować głównie gatunki grzybów wielkoowocnikowych, czyli takich które specjalista-mykolog rozpoznawał po charakterystycznych makroskopowych cechach morfologicznych, albo w wyniku pracochłonnej obróbki mikroskopowej lub biochemicznej. My sięgnęliśmy po najbardziej nowoczesne narzędzia analityczne, jakim są urządzenia do szybkiego, wielkoskalowego i precyzyjnego rozpoznawania sekwencji DNA z próbek glebowych, tzw sekwenatorów nowej generacji.

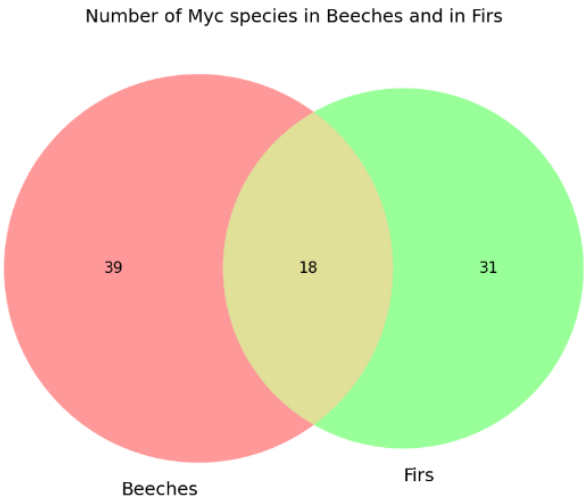
Te ultranowoczesne techniki wymagają od zespołów naukowych nie tylko wiedzy ekologicznej, ale także zaawansowanych umiejętności programistycznych oraz wiedzy z dziedziny statystyki obliczeniowej. To zadanie w naszym zespole wzięli na siebie studenci bioinformatyki – Maks Chmielewski i Mikołaj Charchuta, nie tylko przypisując rozpoznane sekwencje DNA do gatunków grzybowych, ale przede wszystkim proponując innowacyjne rozwiązania z dziedziny zwanej „Big Data Approach". Są to sposoby interpretacji wielkich zestawów danych molekularnych, drogą ich przetwarzania, analizy i wizualizacji. Pozwalają one ekstrahować i porządkować dane „big data" z zestawów o często niepewnej strukturze, także według hipotez ekologicznych, które próbowaliśmy formułować w burzliwych i długotrwałych dyskusjach.

Efekty tych dociekań mogą Państwo zobaczyć na wizualizacjach pokazanych niżej podsumowań. Są one podparte solidnymi przesłankami statystycznymi, które pozwalają na wyodrębnienie grup gatunków grzybowych, które najczęściej towarzyszą sobie nawzajem w badanych przez nas miejscach w Bieszczadach, a więc współtworzą wraz z drzewami górskie siedliska leśne. Proponujemy podziały na kategorie grupowe nie tylko według przynależności taksonomicznej, ale także rozpoznając „klany" o ustalonych zwyczajach troficznych, które współwystępują w mikrosiedliskach poszczególnych jodeł lub buków. Użyliśmy w tym celu bioinformatycznych narzędzi do analizy relacji sieciowych.

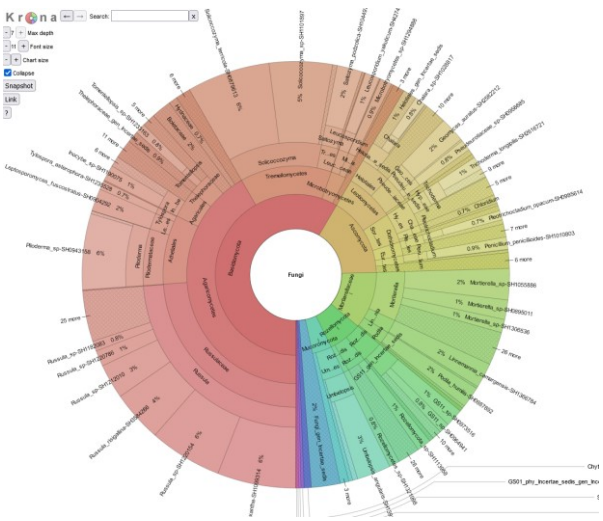
Prowadząc te analizy oparliśmy się na referencyjnych bazach danych, które przypisują unikalne sekwencje DNA do gatunków grzybów i ich trybu życia, rozpoznanych wcześniej technikami innego rodzaju – morfologicznymi, mikroskopowymi i biochemicznymi. Takie bazy danych rozrastają się z roku na rok, więc nasza metodyka, zwana metagenomiką, staje się coraz bardziej wydajna w szybkim rozpoznawaniu składu ekosystemów glebowych, nie tylko dla gatunków grzybowych, ale także bakteryjnych i mikroskopijnych eukariontów. Odkrywane są przy tym wielkie ilości unikalnych sygnatur DNA, należących wprawdzie do znanych grup taksonomicznych, ale do tej pory nie przypisanych do żadnego gatunku, ponieważ brakuje danych opisujących cechy tych organizmów.

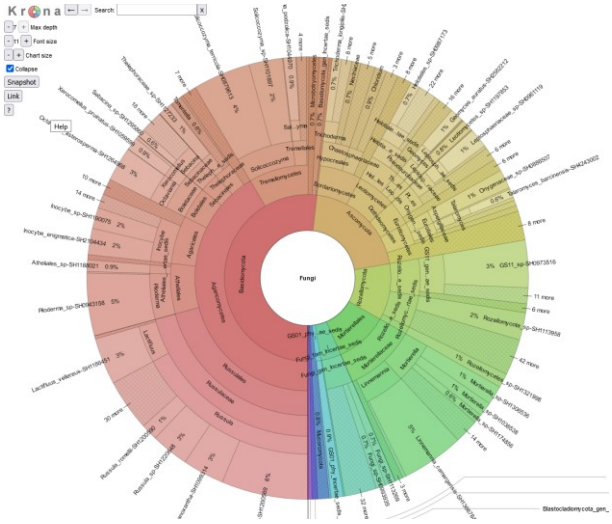
[5] https://przyrodnicze.org/25-nowych-parkow-narodowych-do-utworzenia-w-polsce/



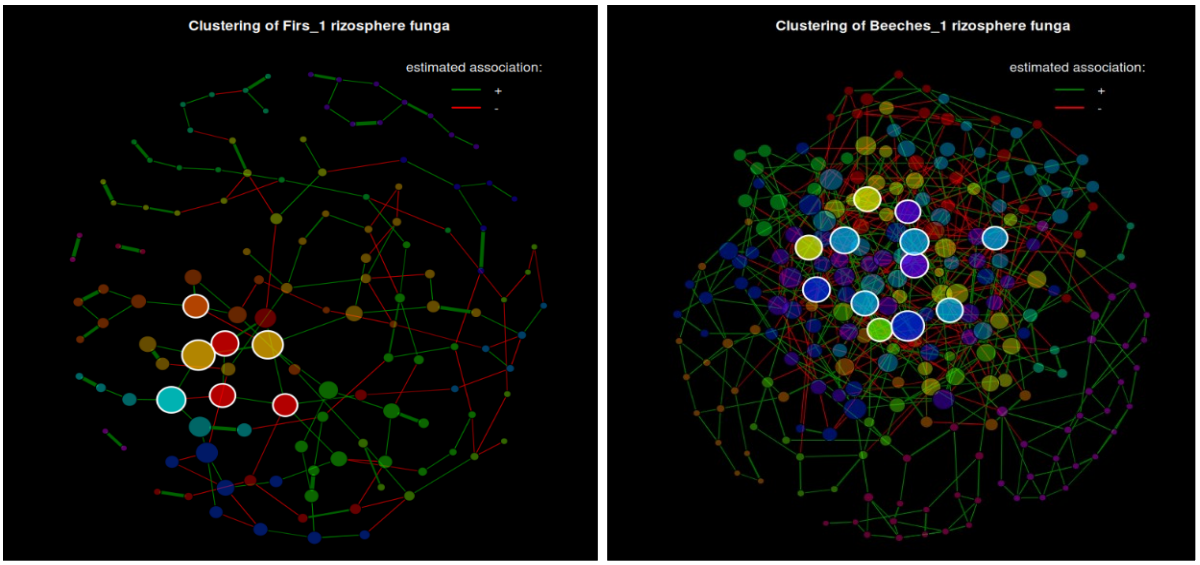


Po lewej: identyfikacja różnic składu gatunkowego grzybów glebowych towarzyszących monumentalnym bukom lub jodłom (diagram Venna). Liczby oznaczają gatunki specyficzne dla tych drzew oraz wspólne dla obu. Po prawej: Diagram Venna pokazujący różnice i podobieństwa w zestawach grzybów mykoryzowych towarzyszących bukom lub jodłom.

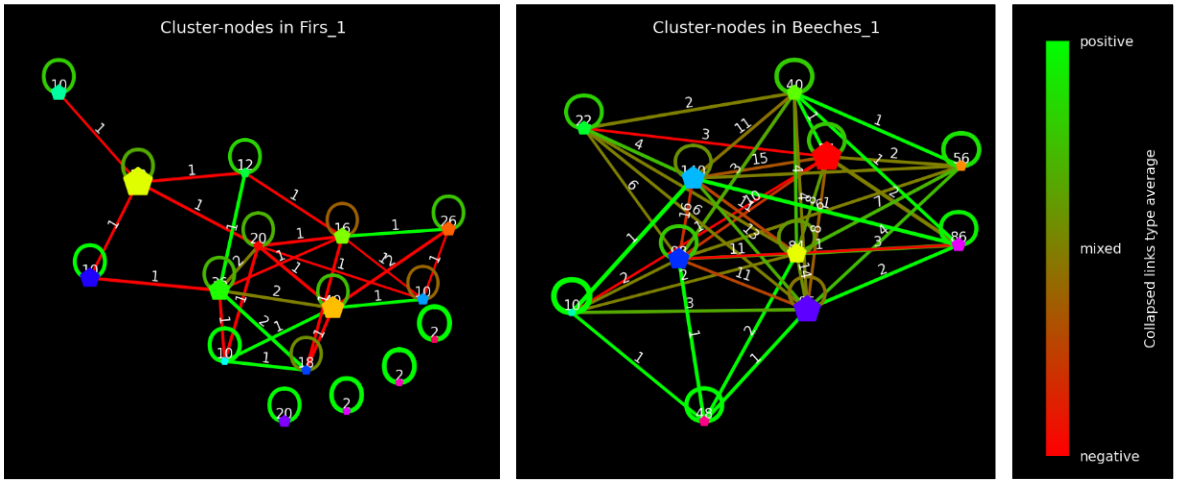




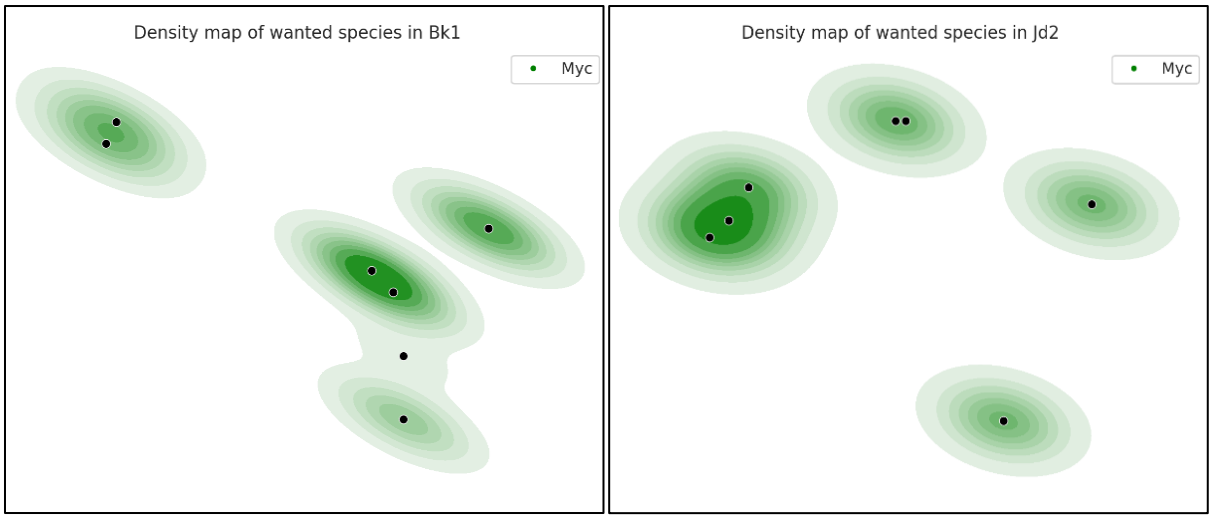
Interaktywne narzędzie (Krona) do wglądu w skład taksonomiczny oraz funkcje ekologiczne gatunków tworzących mykobiomy ryzosfery badanych drzew.



Grafy sieci grzybowych, pokazujące różnice struktur mykobiomów (społeczności grzybowych) dla siedliska bukowego i jodłowego. Linie łączące oznaczają współwystępowanie gatunków o schemacie powtarzającym się w próbkach z 35 badanych drzew dla danego gatunku. Kółkami o tym samym kolorze oznaczono tzw klastry czyli grupy gatunków tworzące współpracujący wewnętrznie „klan”. Użyto narzędzia bioinformatycznego narzędzia analizy potencjalnych relacji sieciowych – NetCoMi (Network Construction and Comparison for Microbiome Data) z zastosowaniem metody wyszukiwania podobieństwa występowania (SPIEC-EASI).



Uproszczony obraz sieci pokazujący relacje pomiędzy poszczególnymi „klanami” gatunków, czyli sieć pokazującą tylko klastry. Linie zielone – współwystępowanie, czerwone – wzajemne wykluczanie się klastrów. Wielkość symbolu (pięciokąt) oznacza, czy rozmiar „klanu” (ilość gatunków i ich przedstawicieli) jest większy czy mniejszy w stosunku do pozostałych.



Przykładowe mapy przewidujące przybliżoną gęstość występowania grzybów o charakterze mykoryzowym wokół monumentalnych buków lub jodeł tworzących wybrane dwa siedliska leśne. Użyto technikę obliczeniową typu „2D Gaussian kernel density estimation”.