

## NAJPOGOSTEJE IZOLIRANE VRSTE GLIV V LESU ODMRLIH VEJ MLADIH GORSKIH JAVOROV IN VPLIV NEKATERIH NA *Eutypella* *parasitica*

Ana BRGLEZ<sup>1</sup>, Barbara PIŠKUR<sup>2</sup>, Nikica OGRIS<sup>3</sup>

<sup>1-3</sup> Gozdarski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo gozdov

### IZVLEČEK

*Eutypella parasitica* R. W. Davidson and R. C. Lorenz je povzročiteljica javorovega raka, uničujoče bolezni javorov v Evropi in Severni Ameriki. Gliva *E. parasitica* verjetno okuži deblo gostitelja skozi odmrle veje ali rane v skorji. Zaradi morebitnega vpliva glivne združbe na okužbo in razrast *E. parasitica* smo na petih vzorčnih lokacijah v okolici Ljubljane preučili sestavo gliv v lesu odmrlih vej gorskega javora (*Acer pseudoplatanus* L.). Izvedli smo izolacije gliv v čiste kulture iz lesa v zunanjem delu odmrle veje in iz razbarvanega lesa v deblu, ki je izviral iz odmrle veje. Čiste kulture smo razvrstili v morfotipe in izbrali po eno reprezentativno kulturo na morfotip za nadaljnjo molekularno določitev. V širokem spektru gliv smo najpogosteje izolirali vrste *Eutypa maura* (Fr.) Sacc., *Eutypa* sp. Tul. and C. Tul., *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *Neocucurbitaria acerina* Wanas., Camporesi, E.B.G. Jones and K.D. Hyde in *E. parasitica*. Preverjali smo razlike v pestrosti glivnih vrst med različnimi lokacijami in debelinami vej. Analizirali smo tudi podobnost glivnih združb med različnimi vzorčnimi lokacijami in med različnimi mesti izolacije. *Eutypella parasitica* je bila izolirana iz vzorcev z vseh petih vzorčnih lokacij, kljub temu, da so bili primeri javorovega raka opaženi le na treh lokacijah, kar kaže na morebitne asimptomatske okužbe. V nadaljevanju smo izmerili tudi vpliv najpogostejših vrst gliv v lesu odmrlih vej gorskega javora na rast glive *E. parasitica* v čisti kulturi in ugotavljali njihov morebitni antagonizem. Na podlagi izračuna antagonističnega indeksa in uspešnosti reizolacij iz interakcijske cone smo ugotavljali potencial opazovanih antagonistov, kot možne biološke kontrole javorovega raka. Med zanimivejše izzivalne izolate lahko uvrstimo glivo *Neonectria* sp. Wollenw., ki se je izkazala za enega večjih inhibitorjev rasti *E. parasitica*. Obetaven pa je tudi rezultat neuspešnih reizolacij *E. parasitica* iz interakcijske cone. Z dodatnimi poskusi bi lahko podali trdnejše zaključke o medsebojnemu delovanju in učinkovanju vrst.

**Ključne besede:** pestrost, združba gliv, *Eutypella parasitica*, dvojne kulture, antagonizem

---

<sup>1</sup> Večna pot 2, SI-1000 Ljubljana

<sup>2</sup> prav tam

<sup>3</sup> prav tam

## ABSTRACT

### FREQUENTLY ISOLATED FUNGI IN WOOD OF DEAD BRANCHES OF YOUNG SYCAMORE MAPLE AND THE INFLUENCE OF SOME ON *Eutypella parasitica*

*Eutypella parasitica* R. W. Davidson and R. C. Lorenz is the causative agent of Eutypella canker of maple, a destructive disease of maples in Europe and North America. The fungus *E. parasitica* infects the trunk probably through a branch stub or bark wound. Because the fungal community may have an impact on infection and colonization by *E. parasitica*, we investigated the composition of fungi colonizing wood of dead branches of sycamore maple (*Acer pseudoplatanus* L.) in five sampling sites near Ljubljana. Isolations were made from the wood in the outer part of dead branches and from discoloured wood in the trunk that originated from a dead branch. Pure cultures were divided into morphotypes, and one representative culture per morphotype was selected for further molecular identification. The most frequently isolated species in a broad spectrum of fungi were *Eutypa maura* (Fr.) Sacc., *Eutypa* sp. Tul. and C. Tul., *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *Neocucurbitaria acerina* Wanas., Camporesi, E.B.G. Jones and K.D. Hyde and *E. parasitica*. We analysed differences in species diversity between the sampling sites and between the branch thickness classes. Furthermore, we analysed similarity of fungal communities between the sampling sites and between the isolation sources. *Eutypella parasitica* was isolated from all five investigated sampling sites, although Eutypella cankers were observed in only three sampling sites, indicating the possibility of asymptomatic infection. Furthermore, we tested the most frequently isolated fungi from the wood of the dead branches of *A. pseudoplatanus* in dual cultures to evaluate their in vitro antagonistic activity against *E. parasitica*. Based on calculating an index of antagonism and re-isolations success from the interaction zone the potential of the observed antagonists as a possible biocontrol of Eutypella canker of maple was discussed. *Neonectria* sp. Wollenw. is one of the most interesting challenge isolate which has been shown to be a good inhibitor of *E. parasitica* growth and especially successful in the interaction zone. Further experiments could provide stronger conclusions about the interactions and effects of species.

**Key words:** diversity, fungal communities, *Eutypella parasitica*, dual cultures, antagonism

## 1 UVOD

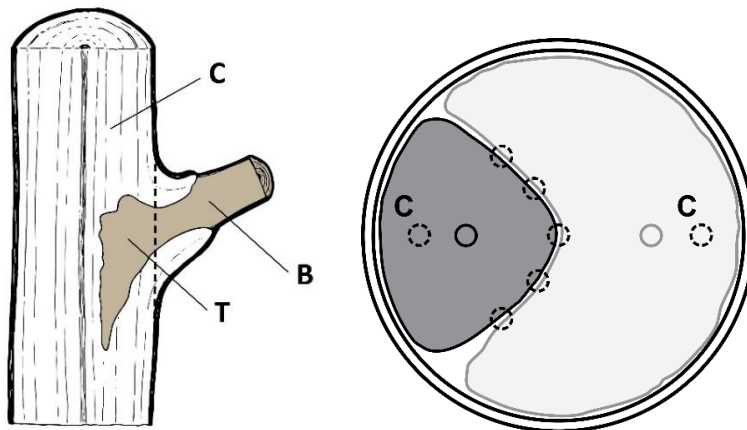
Glivo *Eutypella parasitica* R. W. Davidson & R. C. Lorenz, povzročiteljico javorovega raka, so odkrili in opisali leta 1937 v okolici Velikih jezer, na meji med Kanado in Združenimi državami Amerike (Davidson in Lorenz, 1938). Vrsta okužuje vse vrste javorov (*Acer* spp.). V Ameriki se pojavlja na sladkornem (*Acer saccharum* Marsh.) in rdečem javoru (*A. rubrum* L.), redkeje tudi na ameriškem (*A. negundo* L.), ostrolistnem (*A. platanoides* L.), srebrnem (*A. saccharinum* L.), črnem (*A. nigrum* Mich.), gorskem (*A. pseudoplatanus* L.), progastem (*A. pennsylvanicum* L.) in oregonskem javoru (*A. macrophyllum* Prush.) (Davidson in Lorenz, 1938; French, 1967; Kliejunas in Kuntz, 1972, 1974). V Sloveniji, in hkrati tudi v Evropi, je bil javorov rak prvič zabeležen leta 2005 (Jurc in sod., 2006). Pri nas sta najpogosteje okužena gorski javor (*A.*

*pseudoplatanus* L.) in maklen (*A. campestre* L.), bolezen pa se pojavlja tudi na ostrolistnem javoru (*A. platanoides* L.) in ostalih vrstah javorov (Ogris in sod., 2018). Gliva *E. parasitica* okuži gostitelja najverjetneje skozi odmrlo vejo ali poškodbo na deblu (French, 1967). V odmrlih vejah javorov se pojavljajo tudi številne druge vrste gliv, ki lahko vplivajo na okužbe in rast *E. parasitica*. Namen prispevka je predstaviti rezultate raziskav o najpogostejše izoliranih vrstah gliv v lesu odmrlih vej gorskega javora in njihovem vplivu na rast glive *E. parasitica* v čisti kulturi.

## 2 MATERIALI IN METODE

Na petih vzorčnih lokacijah v okolici Ljubljane smo med novembrom 2017 in marcem 2018 vzorčili odmrle veje gorskega javora. Na vsaki lokaciji smo odvzeli po 40 vzorcev, kar je skupaj nanese 200 odmrlih vej gorskega javora. Vzorce smo prenesli v laboratorij in jih površinsko sterilizirali. Po površinski sterilizaciji smo na 2 % MEA gojišče nacepili koščke iz različnih mest odmrle veje in debla (8 koščkov iz zunanjšega dela odmrle veje, 8 koščkov iz razbarvanega dela lesa v deblu in 4 koščke iz na videz zdravega, neobarvanega dela debla; skupno največ 20 koščkov na vzorec – slika 1). S periodičnim pregledovanjem in precepljanjem smo glive izolirali v čiste kulture. Na podlagi makromorfoloških značilnosti smo kulture razvrstili v morfotipe. Najpogostejše morfotipe (število kultur > 5) smo določili do nivoja vrste ali rodu z analizo nukleotidnih zaporedij izbranih molekularnih markerjev (del odsekov ITS rDNA, EF-1a). Na podlagi podatkov smo izračunali relativne frekvence identificiranih taksonov, indeks gostote, Shannonov diverzitetni indeks, Jaccardov indeks podobnosti ipd. V nadaljevanju smo preverjali razlike v pestrosti vrst in podobnosti glivnih združb med različnimi lokacijami vzorčenja, različnimi mesti izolacij in različnimi debelinskimi razredi vej (Brglez in sod., 2020a).

285



Slika 1: levo: mesta izolacije gliv v vzorcih: B – zunanji del odmrle veje; T – razbarvan les v deblu; C – kontrola (ilustracija: S. Zidar) (Brglez in sod., 2020a) in desno: reisolacijski test – 5 koščkov odvzetih iz interakcijske cone in 2 koščka odvzeta iz roba kolonij (ilustracija: S. Zidar) (Brglez in sod., 2020b).

Glivo *E. parasitica* smo v nadaljevanju izpostavili desetim najpogosteje izoliranim vrstam gliv v lesu odmrlih vej gorskega javora iz prvega dela raziskave. Tako izpostavljeni vrsti na istem gojišču oz. v isti petrijevki v nadaljevanju poimenujemo kot dvojne kulture. Z luknjačem smo z robnih, aktivnih delov micelija posameznih čistih kolonij izrezali koščke agarja ( $\varnothing$  5 mm) in jih v oddaljenosti 4 cm položili na 3,9 % PDA gojišča, v petrijevke s premerom 9 cm. Pripravili smo tudi samoinhibicijske (isti izolat *E. parasitica*) in kontrolne (*E. parasitica* in sterilni agar) dvojne kulture. Vsako kombinacijo smo ponovili 3-krat. Spremljali smo rast v petrijevkah in določili tip interakcije po Badalyan in sod. (2004). Na podlagi tipa interakcije smo izračunali antagonistični indeks (AI). Po desetih dneh od stika micelijev oz. deset dni po koncu rasti na navidezni vodoravni liniji med nacepljenima koščkoma smo izvedli reizolacije (Koukol in sod., 2006). Z luknjačem ( $\varnothing$  5 mm) smo izrezali 5 koščkov agarja iz interakcijske cone in 2 kontrolna koščka agarja (slika 1) ter jih nacepili na sveža PDA gojišča. Razvite kulture smo morfološko pregledali in z molekularnimi metodami (pomnoževanje odseka regije ITS rDNA z vrstno specifičnima primerjema EpF/R (Piškur in sod., 2007) in vizualizacija na gelu) ugotovili prisotnost oz. odsotnost *E. parasitica* v reizoliranih kulturah. Na podlagi teh podatkov smo izračunali uspešnost reizolacij (s) iz interakcijske cone (Brglez in sod., 2020b).

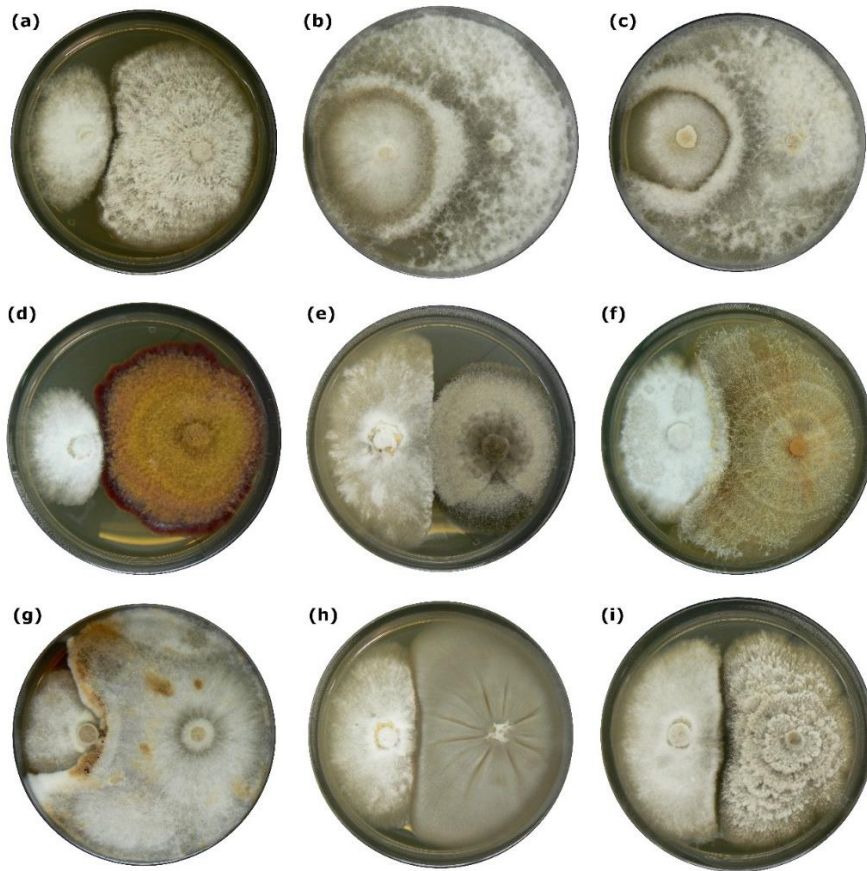
### 3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Iz 2700 nacepljenih koščkov smo izolirali 1744 kultur in določili 212 morfotipov. Izmed 91 najpogostejših morfotipov (število kultur > 5) smo identificirali 58 različnih taksonov gliv. Najpogosteje izolirane vrste so bile *Eutypa maura*, *Eutypa* sp. 2, *Fusarium avenaceum*, *Neocucurbitaria acerina* in *E. parasitica*. Lokacije vzorčenj so si bile relativno blizu (maksimalna razdalja 26 km), kar kaže na visoko pestrost glivnih vrst. Razlog za visoko pestrost je najverjetneje kombinacija ugodne geografske lokacije, podnebnih značilnosti, starosti in velikosti vzorcev, metode sterilizacije in različnih mest izolacije (Danti in sod., 2002; Tedersoo in sod., 2014).

Razlike v pestrosti vrst med različnimi lokacijami vzorčenja ( $p = 0,076$ ), med različnimi mesti izolacije ( $p = 0,212$ ) in med različnimi debelinskimi razredi vej ( $p = 0,822$ ) so bile neznačilne. Ravno obratno pa smo ugotovili značilne razlike v glivnih združbah med različnimi lokacijami vzorčenja ( $p = 0,001$ ), med različnimi mesti izolacij ( $p = 0,001$ ) in med različnimi debelinskimi razredi vej ( $p = 0,003$ ).

*Eutypella parasitica* je bila izolirana tudi na lokacijah, kjer predhodna inventura javorov ni pokazala prisotnosti javorovega raka. Razloge lahko pripišemo bližini sestojev, kjer smo zaznali razvite javorove rake in možnost asimptomatskih okužb. Ugotovili smo 1,5-krat pogostejše izolacije *E. parasitica* iz obarvanega lesa v deblu, kot iz zunanjega dela odmrle veje. Predvidevamo, da je v zunanjem delu odmrle veje močnejša konkurenca, zaradi česar *E. parasitica* hitro napreduje v les debla, v zunanjem delu veje pa jo nadomestijo druge, konkurenčnejše vrste. Primerjava pestrosti glivnih vrst med odmrliimi vejami z in brez *E. parasitica* ni pokazala značilnih razlik. Zaključimo lahko, da nobena izmed najpogosteje izoliranih vrst ni strogo povezana s pojavnostjo *E. parasitica*.

Makroskopski pregled dvojnih kultur je pokazal, da je v skoraj vseh primerih prišlo do stika micelijev med *E. parasitica* in izzivalnim izolatom (slika 2). Za najbolj agresiven izolat se je izkazal *Peniophora incarnata* (Pers.) P. Karst., ki je skoraj povsem prerasel *E. parasitica*. Micelij *E. parasitica* v nobeni od kombinacij ni kazal makroskopskih sprememb, je pa bilo v primeru dvojnih kultur s *F. avenaceum*, *N. acerina*, *Petrakia irregularis* Aa in *Phomopsis pustulata* (Sacc.) Died. opaziti večje količine spor (v obliki kapljic) ob koščku agarja *E. parasitica* (slika 2: d, e, h in i).



Slika 2: Micelijske interakcije po 18-ih dneh skupne inkubacije med *E. parasitica* (levo) in izzivalnim izolatom (desno): a) *Diaporthe* sp.; b) *Eutypa* sp.; c) *Eu. maura*; d) *F. avenaceum*; e) *N. acerina*; f) *Neonectria* sp.; g) *P. incarnata*; h) *Pe. irregularis* in i) *Ph. pustulata* (Brglez in sod., 2020b).

Določili smo tri tipe interakcij v dvojnih kulturah. Najpogosteje se je rast *E. parasitica* po kontaktu z drugim micelijem ustavila ali pa je izzivalni izolat delno prerasel micelij glive *E. parasitica* po začetnem stiku micelijev in ustavitvi rasti. Redkeje pa je prišlo

do ustavitve rasti na razdalji, brez kontakta micelijja, kar bi lahko bila posledica sproščanja sekundarnih metabolitov z zaviralnim učinkom. Najvišje vrednosti antagonističnega indeksa smo zabeležili pri *Eutypa* sp., *Eu. maura*, *Neonectria* sp. in *P. incarnata*. Slednje vrste so imele višji inhibitorski učinek oz. značilno negativen vpliv na rast *E. parasitica* v dvojni kulturi. Ti rezultati se dobro ujemajo tudi s pričakovano visoko uspešnostjo reizolacij izzivalnih izolatov iz interakcijske cone. Omenjene vrste so se v tem poskusu izkazale za najbolj obetavne za uporabo v sklopu biološke kontrole *E. parasitica*.

Reizolacije *E. parasitica* iz dvojnih kultur z *Eutypa* sp., *F. avenaceum* in *Neonectria* sp. so bile neuspešne. Omenjeni izolati so najverjetneje v interakcijski coni premagali in nadomestili *E. parasitica*. Na drugi strani so bile reizolacije *Diaporthe* sp., *N. acerina* in *Pe. irregularis* manj uspešne. V teh primerih je imela *E. parasitica* večji tekmovalni uspeh.

#### 4 SKLEPI

V lesu odmrlih vej gorskega javora smo odkrili izjemno širok spekter gliv. Zavedati se moramo, da je v vzorcih zagotovo prisotnih še več vrst, ki jih nismo uspeli identificirati (Wu in sod., 2019). Določili smo le vrste z najhitrejšo rastjo in tiste, ki so sposobne rasti pri uporabljenih pogojih izolacije in inkubacije. Med najpogostejše izoliranimi vrstami v naši raziskavi se je le *Eu. maura* pojavljala tudi v tujih študijah (Butin in Kowalski, 1986; Chlebicki, 1988; Kowalski in Kehr, 1992; Unterseher in sod., 2005; Johnova, 2009). Na sestavo, številčnost, in razporeditev gliv v lesu odmrlih vej lahko namreč vplivajo številni dejavniki (Kowalski in Kehr, 1992; Danti in sod., 2002; Gennaro in sod., 2003; Unterseher in sod., 2005; Unterseher in Tal, 2006; Kowalski in sod., 2016; Hanáčková in sod., 2017): splošno zdravstveno stanje gostitelja, stopnja razgradnje vzorcev, starost dreves in vej, debelina vej, temperatura, padavine, značilnosti tal, razpoložljivost vode, drevesna sestava, rastlinska združba, čas vzorčenja, metoda izolacije, posplošene inkubacijske razmere ipd.

Najzanimivejša ugotovitev naše raziskave je izolacija *E. parasitica* iz vseh petih lokacij vzorčenja, kljub temu, da so bili razviti javorovi raki opaženi le na treh.

S testom dvojnih kultur smo pridobili delni vpogled v kompleksnost interakcij med *E. parasitica* in najpogostejše izoliranimi vrstami gliv v lesu odmrlih vej gorskega javora. Ugotovili smo, da imajo izolati gliv *Eutypa* sp., *Eu. maura*, *Neonectria* sp. in *P. incarnata* potencial za uporabo v sklopu biološke kontrole *E. parasitica*. Vendar pa moramo biti pri interpretaciji in posploševanju naših rezultatov izjemno previdni. Gre namreč za preliminarne rezultate laboratorijskih testov, ki bi jih bilo nujno razširiti z večjim številom ponovitev posameznih kombinacij, z večjim številom uporabljenih izolatov *E. parasitica*, z dodatnimi raziskavami sekundarnih metabolitov in njihovega vpliva na antagonistično aktivnost (Yuen in sod., 1999; Prior in sod., 2017). Za točnejše zaključke o uporabi določenih vrst za biološko kontrolo *E. parasitica* bi bilo nujno raziskati interakcije tudi v naravnem okolju.

## 5 ZAHVALA

Raziskavo sta financirala Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije (program mladi raziskovalec za A. B.; raziskovalni program P4-0107 Gozdna biologija, ekologija in tehnologija) in Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano (Javna gozdarska služba). Avtorji se vsem vpletenim v raziskavo iskreno zahvaljujemo.

## 6 LITERATURA

- Badalyan S. M., Innocenti G., Garibyan N. G. 2004. Interactions between xylotrophic mushrooms and mycoparasitic fungi in dual-culture experiments. *Phytopathologia Mediterranea*, 43: 44-48
- Brglez A., Piškur B., Ogris N. 2020a. *Eutypella parasitica* and other frequently isolated fungi in wood of dead branches of young sycamore maple (*Acer pseudoplatanus*) in Slovenia. *Forests*, 11, 467
- Brglez A., Piškur B., Ogris N. 2020b. In Vitro Interactions between *Eutypella parasitica* and Some Frequently Isolated Fungi from the Wood of the Dead Branches of Young Sycamore Maple (*Acer pseudoplatanus*). *Forests*, 11, 1072: 1-12
- Butin H., Kowalski T. 1986. Die natürliche Astreinigung und ihre biologischen Voraussetzungen III. Die Pilzflora von Ahorn, Erle, Birke, Hainbuche und Esche. *Forest Pathology*, 16, 3: 129-138
- Chebicki A. 1988. Some ascomycetous fungi or their anamorphs occurring on trees in Poland. *Acta Mycologica*, 24: 77-92
- Danti R., Sieber T. N., Sanguineti G. 2002. Endophytic mycobiota in bark of European beech (*Fagus sylvatica*) in the Apennines. *Mycological Research*, 106, 11: 1343-1348
- Davidson R. W., Lorenz R. C. 1938. Species of *Eutypella* and *Schizoxylon* associated with cankers of maple. *Phytopathology*, 28: 733-745
- French W. J. 1967. *Eutypella* canker on species of *Acer* in New York state. PhD thesis. Syracuse, New York, USA, State University College of Forestry at Syracuse University: 160 str.
- Gennaro M., Gonthier P., Nicolotti G. 2003. Fungal Endophytic Communities in Healthy and Declining *Quercus robur* L. and *Q. cerris* L. Trees in Northern Italy. *Phytopathology*, 151: 529-534
- Hanáčková Z., Havrdová L., Černý L., Zahradník D., Koukol O. 2017. Fungal Endophytes in Ash Shoots - Diversity and Inhibition of *Hymenoscyphus fraxineus*. *Baltic Forestry*, 23, 1: 89-106
- Johnova M. 2009. Diversity and ecology of selected lignicolous Ascomycetes in the Bohemian Switzerland National Park (Czech Republic). *Czech Mycology*, 61, 1: 81-97
- Jurc D., Ogris N., Slippers B., Stenlid J. 2006. First report of *Eutypella* canker of *Acer pseudoplatanus* in Europe. *Plant Pathology*, 55, 4: 577
- Kliejunas J. T., Kuntz J. E. 1972. Development of stromata and the imperfect state of *Eutypella parasitica* in maple. *Canadian Journal of Botany*, 50: 1453-1456
- Kliejunas J. T., Kuntz J. E. 1974. *Eutypella* canker, characteristics and control. *The Forestry Chronicle*, 50, 3: 106-108
- Koukol O., Mrnka L., Kulhankova A., Vosatka M. 2006. Competition of *Scleroconidioma sphagnicola* with fungi decomposing spruce litter needles. *Canadian Journal of Botany*, 84: 469-476
- Kowalski T., Kehr R. D. 1992. Endophytic fungal colonization of branch bases in several forest tree species. *Sydowia*, 44, 2: 137-168
- Kowalski T., Kraj W., Bednarz B. 2016. Fungi on stems and twigs in initial and advanced stages of dieback of European ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. *European Journal of Forest Research*, 135: 565-579
- Ogris N., Jurc D., Hauptman T., Piškur B., Piškur M., Urban D., Grmovšek T., Šneberger B., Klaužer S., Brglez A. 2018. Podatkovna zbirka Gozdarskega inštituta Slovenije o najdiščih javorovega raka (*Eutypella parasitica*) v Sloveniji. (21. dec. 2018)
- Piškur B., Ogris N., Jurc D. 2007. Species-specific primers for *Eutypella parasitica*, the causal agent of *Eutypella* canker of maple. *Plant Disease*, 91: 1579-1584
- Prior R., Feife A., Begerow D. 2017. Antagonistic activity of the phyllosphere fungal community. *Sydowia*, 69: 183-198

- Tedersoo L., Bahram M., Põlme S., Kõljalg U., Yorou N. S., Wijesundera R., Villarreal Ruiz L., Vasco-Palacios A. M., Quang Thu P., Suija A., Smith M. E., Sharp C., Saluveer E., Saitta A., Rosas M., Riit T., Ratkowsky D., Pritsch K., Põldmaa K., Piepenbring M., Phosri C., Peterson M., Parts K., Pärtel K., Otsing E., Nouhra E., Njouonkou A. L., Nilsson R. H., Morgado L. N., Mayor J., May T. W., Majuakim L., Lodge D. J., Lee S. S., Larsson K. H., Kohout P., Hosaka K., Hiiesalu I., Henkel T. W., Harend H., Guo L., Greslebin A., Grelet G., Geml J., Gates G., Dunstan W., Dunk C., Drenkhan R., Dearnaley J., De Kesel A., Dang T., Chen X., Buegger F., Brearley F. Q., Bonito G., Anslan S., Abell S., Abarenkov K. 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 346, 6213: 1256688
- Unterseher M., Otto P., Morawetz W. 2005. Species richness and substrate specificity of lignicolous fungi in the canopy of a temperate, mixed deciduous forest. *Mycological Progress*, 4, 2: 117-132
- Unterseher M., Tal O. 2006. Influence of small scale conditions on the diversity of wood decay fungi in a temperate, mixed deciduous forest canopy. *Mycological Research*, 110: 169-178
- Wu B., Hussain M., Zhang W., Stadler M., Liu X., Xiang M. 2019. Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi. *Mycology*, 10, 3: 127-140
- Yuen T. K., Hyde K. D., Hodgkiss I. J. 1999. Interspecific Interactions among Tropical and Subtropical Freshwater Fungi. *Microbial Ecology*, 37: 257-262