

**TADEUSZ KOWALSKI, WALDEMAR SADŁOWSKI**

# **Grzyby endofityczne**

## **II. Znaczenie dla roślin i możliwości ich wykorzystania**

Endophytic Fungi

II. Their Importance for Plants and Possibilities of Use

### **Wstęp**

**Z** danych przedstawionych przez Kowalskiego i Sadłowskiego (15) wynika, że nadziemne części roślin są często infekowane przez grzyby endofityczne, które mimo zasiedlania żywych tkanek nie wywołują u nich objawów chorobowych.

Z wcześniejszych prac nie wynikało, że endofity mogą w jakiś istotny sposób wywierać wpływ na rośliny (18). Pogląd ten uległ zmianie z chwilą, gdy po raz pierwszy eksperymentalnie wykazano, że rośliny zasiedlone przez określone endofity mogą być nie uszkodzone przez owady (23). Obecnie endofitom poświęca się wiele prac badawczych na całym świecie, nie tylko z zakresu fitopatologii, ale i biotechnologii. Rozważa się możliwości wprowadzania do roślin, z wykorzystaniem osiągnięć w inżynierii genetycznej takich endofitów, przez które można by wpływać na rośliny celem uzyskania pewnych, z góry określonych efektów np. w celu otrzymania roślin odpornych na działanie czynników biotycznych (28).

Jakkolwiek liczne badania wskazują na duże znaczenie endofitów w życiu roślin, to jednak zgodnie uważa się, że nie zostało ono jeszcze w pełni poznane. W tym opracowaniu dokonano przeglądu obecnego stanu wiedzy w zakresie znaczenia grzybów endofitycznych i perspektyw ich wykorzystania.

### **Znaczenie ujemne endofitów**

W związku z zasiedleniem przez endofity, roślina ponosi pewne energetyczne koszty bezpośrednio i pośrednio. Koszty bezpośrednio to energia jaką roślina musi wydatkować w związku z rozwojem strzępek grzyba i utrzymaniem go przy życiu. Straty te nie są zbyt

duże, gdyż strzępki grzybów stanowią mniej niż 1% suchej masy rośliny. U drzew zrzucających corocznie aparat asymilacyjny, może to wymagać straty ok. 5% produktów fotosyntezy (5). Straty te powiększane są przez koszty pośrednie, które wynikają:

- z blokowania transportu asymilatów; najprawdopodobniej grzyby blokują więcej asymilatów niż to wynika z ich zapotrzebowania,
- z blokowania transportu składników organicznych z liści przed ich opadem; nie wykluczone, że w ten sposób zapewniają sobie odpowiedni substrat do rozwoju w fazie saprofitycznej po opadzie liści,
- z konieczności wydatkowania energii celem neutralizowania toksyn produkowanych przez endofity, które mogłyby być szkodliwe dla rośliny. Oblicza się, że koszty pośrednie są wielokrotnie większe od kosztów bezpośrednich.

Inny rodzaj szkodliwości endofitów polega na tym, że mogą one oddziaływać niekorzystnie na roślinę, powodując przedwczesne starzenie się i opadanie organów asymilacyjnych (4, 25).

U roślin tytoniu endofity redukowały o 1/3 produkcję suchej masy, co było głównie wynikiem mniejszej liczby liści, jakie wytwarzały rośliny zasiedlone przez endofity (19).

Poza tym wiele gatunków grzybów może żyć endofitycznie przez długi okres (nawet przez kilka lat), lecz w pewnych warunkach może przejść do działalności patogenicznej i powodować choroby roślin. W przypadku drzew leśnych dotyczy to głównie grzybów z rodzaju *Pezizula* (anamorfa = *Cryptosporiopsis*), *Diaporthe* (*Phomopsis*) i *Guignardia* (*Phyllosticta*). Jest to także nierzadkim przypadkiem u roślin uprawnych. Na przykład u pszenicy można stwierdzić podczas całego okresu wegetacyjnego sprawcę septoriozy - *Stagonospora nodorum* oraz sprawcę białej pleśni śniegowej — *Monographella nivalis*, mimo że rośliny zasiedlone nie wykazują żadnych objawów chorobowych (21). Patogeniczne właściwości wymienionych grzybów ujawniają się prawdopodobnie wtedy, gdy zaistnieją szczególne ekologiczne warunki oraz zmiany w metabolizmie lub mechanizmach obronnych roślin ułatwiających rozwój patogena. Te utajone infekcje grzybów endofitycznych muszą być uwzględniane w epidemiologii oraz w opracowywanych metodach ochrony roślin przed chorobami. Endofity mogą być szkodliwe nie tylko dla roślin, ale także dla zwierząt, co ma szczególne znaczenie w rolnictwie. Najbardziej znane jest zjawisko obserwowane w Ameryce Północnej, które przez długi czas było trudne do wyjaśnienia. Otóż *Festuca arundinacea* jest w USA ważną trawą pastwiskową, która cechuje się wysokimi plonami, dużą konkurencyjnością, odpornością na choroby i tolerancją na niedosyt wody. Prowadzi ona jednak do poważnych chorób zwierząt, cechujących się słabym przyrostem masy ciała, niską mlecznością i zakłóceniami w reprodukcji. Badania wykazały, że trawa ta jest masowo zasiedlana przez wyspecjalizowanego endofita — *Acremonium coenophialum* a przyczyną chorób zwierząt są właśnie alkaloidy produkowane przez tego grzyba (19).

### Znaczenie dodatnie endofitów

Wśród endofitów o korzystnym wpływie na rośliny, zależnie od sposobu oddziaływania, można wyróżnić przynajmniej dwie grupy. Pierwsza z nich to endofity indukujące zmiany

w fizjologii roślin. Otóż niektóre z grzybów endofitycznych produkują auksyny oraz ektoenzymy, które mogą być wykorzystywane przez rośliny do przyspieszenia wzrostu lub w innych procesach rozwojowych. Właściwości takie wykazują m.in. *Aureobasidium pullulans* i *Epicoccum purpurascens* (1). Luginbühl i Müller (17) wykazali, że nasiona bluszczu jeżeli znajdowały się w kontakcie z tymi gatunkami znacznie szybciej kiełkowały. Inny z grzybów, *Fusarium moniliforme* produkuje gibereliny, które powodują szybki wzrost u tych roślin ryżu, które są zainfekowane przez tego grzyba w sposób utajony. Niektóre z endofitów tytoniu wpływały z kolei na stymulowanie procesu kwitnienia (19). Znane są także takie endofity, które mogą łagodzić u zasiedlonej rośliny stres wynikający z oddziaływania czynników abiotycznych. Typowym przykładem jest tutaj grzyb *Acremonium coenophialum*, zasiedlający endofitycznie trawę *Festuca arundinacea*, dzięki któremu rośliny te łatwiej znoszą długotrwały niedobór wody w glebie (3).

Drugą grupę stanowią endofity biorące udział w systemie ochrony roślin przed czynnikami biotycznymi: grzybami, bakteriami, owadami i nematodami. Sposoby oddziaływania tych endofitów, na co wskazują przedstawione przykłady są dosyć zróżnicowane. Dotychczas stwierdzono stosunkowo najwięcej zależności między endofitami a owadami uszkadzającymi aparat asymilacyjny drzew i powodującymi wyrośla (tabela). Efektem działalności tych grzybów endofitycznych jest ograniczanie populacji szkodników owadzich. Uśmiercanie owadów następuje głównie dwoma drogami. Jedne z endofitów wydzielają toksyny, które powodują zatrucie larw, w ten sposób oddziałują m.in. najczęstszy i najbardziej specyficzny endofit igieł daglezi *Rhabdocline parkeri* względem owadów z rodzaju *Contarinia* (7).

TABELA  
Endofity drzew leśnych wpływające na ograniczenie populacji szkodliwych owadów

Gatunek drzewa	Grzyb endofityczny	Szkodliwe owady (literatura)
<i>Abies balsamea</i>	<i>Phyllosticta</i> sp.	<i>Paradiplosis tumifex</i> (22)
<i>Acer pseudoplatanus</i>	<i>Diplodina acerina</i>	<i>Dasineura vitrina</i> (29)
<i>Fagus sylvatica</i>	<i>Apiognomonina errabunda</i>	<i>Mikiola fagi</i> (24)
<i>Picea pungens</i>	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Adelges abietis</i> (16)
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	<i>Rhabdocline parkeri</i>	<i>Contarinia</i> spp. (3)
<i>Quercus robur</i>	<i>Kabatiella apocrypta</i>	<i>Trioza remota</i> (2)
	<i>Apiognomonina quercina</i>	<i>Neuroterus numismalis</i> (2)
	<i>Dichomera saubineti</i>	<i>Polystepha panteli</i> (2)

Inne z endofitów powodują nekrozę tkanki roślinnej wokół wyrośli, co powoduje wygłodzenie owada lub niedorozwój i wykruszenie wyrośli. Dawniej sądzono, że to owady — sprawcy wyrośli są wektorami przenoszącymi grzyby, które następnie wokół wyrośli powodują nekrozy tkanek. Badania wykazują jednak, że grzyby te są pospolite w liściach jako endofity, zanim zostaną one uszkodzone przez owady. Martwe larwy jak i wyrośla są następnie na ogół silnie przerośnięte strzępkami grzybów. Procent zmarłych larw z powodu działalności grzybów endofitycznych może być niekiedy bardzo wysoki. Wulf (29) zaobserwował, że spośród 474 wyrośli spowodowanych przez *Dasineura vitrina* na liściach jaworu, w 68% przypadków larwy obumarły, głównie w następstwie oddziaływania grzyba endofitycznego *Diplodina acerina*.

Niektóre owady natomiast omijają takie igły, które zasiedlone są przez określone endofity. Zjawisko takie zaobserwował m.in. *Diamandis* (9) w Grecji u igieł sosny zasiedlonych przez grzyb *Elytroderma torres-juanii*.

Produkowanie przez wspomnianego już tutaj endofita *Acremonium coenophialum* alkaloidów powoduje, że *Festuca arundinacea* jest nie uszkodzona przez owady i nematody; to ochronne działanie prowadzi do zwiększenia plonu tej trawy (7, 19).

Wiele grzybów endofitycznych wytwarza substancje antybiotyczne, które hamują rozwój patogenicznych grzybów i bakterii; mogą chronić przez to rośliny przed różnymi chorobami. Stwierdzono m.in. hamujący efekt grzyba *Epicoccum nigrum* na wzrost grzyba patogenicznego *Botrytis allii* (10). Jeden z częstych endofitów w igłach sosny — *Cenangium ferruginosum* ogranicza *in vitro* wzrost najgroźniejszego sprawcy osutki sosny — *Lophodermium sediciosum* (12, 13, 14). *Ascocoryne sarcoides* występujący endofitycznie w żywych strzałach świerka również wytwarza antybiotyczne substancje mogące ograniczać rozwój grzybów patogenicznych (4). Takie właściwości wykazuje także *Cryptosporiopsis* sp. stwierdzany jako endofit w liściach borówki czernicy (21), a *Acremonium coenophialum* — pospolity endofit *Festuca arundinacea* hamuje rozwój takich grzybów patogenicznych jak *Rhizoctonia solani*, *R. cerealis* i *Fusarium oxysporum* (7).

W zupełnie inny sposób wpływa grzyb *Phomopsis oblonga* na ograniczenie holenderskiej choroby wiązu. Otóż grzyb ten jest endofitem zasiedlającym wewnętrzną warstwę kory u wiązów, gdzie wydziela różne substancje chemiczne (4). Powoduje to, że fragmenty kory zainfekowane przez *Phomopsis oblonga*, nie są zasiedlane przez ogłódki, a jeżeli one w tych miejscach żerują, to następuje redukcja ich potomstwa, co prowadzi w efekcie do zmniejszenia liczbowego wektorów przenoszących sprawcę holenderskiej choroby wiązu. Częste występowanie *Phomopsis oblonga* w naturze może zatem zmniejszyć nasilenie holenderskiej choroby wiązu (26).

Widler i Müller (27) sugerują ponadto, że duża grupa grzybów endofitycznych nie wpływa w jakiś istotny sposób na roślinę gospodarza, lecz odżywia się produktami przemiany materii, które są zbędne dla rośliny. Wpływ tej grupy endofitów może być jednak bardzo korzystny, gdyż mogą one zapobiegać infekcjom grzybów patogenicznych, ponieważ potrzebne dla nich substancje, będą już spożytkowane przez endofity.

Z przedstawionej analizy i przykładów wynika, że rola grzybów endofitycznych jest bardzo duża, chociaż należy mieć na uwadze, że jest ona poznana dopiero w niewielkim zakresie.

## Endofity a biologiczna ochrona roślin

Asocjacja endofit — roślina wydaje się oferować duże możliwości biologicznej ochrony roślin, ponieważ grzyby endofityczne stanowią integralną część systemu roślinnego (6). Z tego powodu nadają się do tego, by wprowadzać poprzez nie geny do rośliny. Endofity specyficzne dla danego gatunku rośliny mogą być genetycznie manipulowane tak, by produkowały określone substancje wewnątrz rośliny gospodarza, co można by określić pewnym rodzajem pośredniej inżynierii genetycznej względem rośliny.

Obecny postęp w tym zakresie sprawia, że tego typu transformacje u grzybów są możliwe do przeprowadzenia i mogą okazać się bardzo ważne dla gospodarki (11, 20).

Pozytywne postępy w tym zakresie otrzymali już Dewan i Sivasithamparam (8), którzy informują o wykorzystaniu pewnego niezarodnikującego grzyba wyizolowanego z pszenicy w jej ochronie przed groźnym patogenem *Gaeumannomyces graminis var. tritici*. Ta praca stała się jakby impulsem do badań nad wykorzystaniem mikroorganizmów endofitycznych w biologicznym zwalczaniu (28). W tym świetle, dalsze badania nad grzybami endofitycznymi drzew leśnych zdają się być nieodzowne.

*Z Katedry Fitopatologii Leśnej  
Akademii Rolniczej w Krakowie*

## Literatura

1. Buckley N.G., Pugh G.J., 1971: Auxin production by phylloplane fungi. *Nature* 231, 332.
2. Butin H., 1993: Effect of endophytic fungi from oak (*Quercus robur* L.) on mortality of leaf inhabiting gall insects. *Eur. J. Path.* 22, 237–246.
3. Carroll G.C., 1986: The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials: In: *Microbiology of the phyllosphere*. Ed. by N.J. Fokkema, J. van den Heuvel. London, New York: Cambridge Univ. Press, pp. 205–222.
4. Carroll G.C., 1988: Fungal endophytes in stems and leaves: From latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology* 69, 2–9.
5. Carroll G.C., 1990: The evolution of the host-endophyte symbiosis. Fourth Intern. Mycol. Congr. Regensburg, Abstr.
6. Clay K., 1989: Clavicipitaceous endophytes of grasses: their potential as biocontrol agents. *Mycol. Res.* 92, 1–12.
7. Clay K., 1990: Comparative demography of three graminoids infected by systemic, clavicipitaceous fungi. *Ecology* 7, 558–570.
8. Dewan M.M., Sivasithamparam I., 1989: Behaviour of a plant growth-promoting sterile fungus on agar and roots of rye-grass and wheat. *Mycological Research* 93, 161–166.
9. Diamandis S., 1981: *Elytroderma torres-juanii* Diamandis and Minter. A serious attack on *Pinus brutia* L. in Greece. In: *Current research on conifer needle diseases* ed. C.S. Millar, Aberdeen Univ. Press, Aberdeen, Scotland, pp. 9–12.
10. Eka O.U., 1970: Fungistatic action of the pigment secreted by the fungus *Epicoccum nigrum* Link. *Experientia* 26, 1278.
11. Fincham J.R.S., 1989: Transformation in Fungi. *Microbiol. Reviews* 53, 148–170.

12. **Kowalski T.**, 1983: Fungi in living symptomless needles of *Pinus sylvestris* with respect to some observed disease processes. *J. Phytopathology* (139, 129–145).
13. **Kowalski T., Lang K.J.**, 1983: Über die Mykoflora in den Nadeln unterschiedlich alter Kiefern (*Pinus sylvestris* L.) *Phytopath. Z.* 107, 9–21.
14. **Kowalski T., Poździk P.**, 1992: Grzyby endofityczne w żywych igłach *Pinus sylvestris* L. *Acta Agr. et Silv., ser. Silv.* (31, 17–30).
15. **Kowalski T., Sadłowski W.**, 1993: Grzyby endofityczne I. Skład gatunkowy i występowanie. *Sylvan*, Nr 9, 21–30.
16. **Lasota J.A., Waldvogel M.G., Shetlar D.J.**, 1983: Fungus found in galls of *Adelges abietis* (L.) (*Homoptera: Adelgidae*): identification, within-tree distribution, and possible impact on insect survival. *Environ. Entomol.* 12, 245–246.
17. **Luginbühl M., Müller E.**, 1980: Untersuchungen über endophytische Pilze II. Förderung der Samenkeimung bei *Hedera helix* durch *Aureobasidium pullulans* und *Epicoccum purpurascens*. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 90, 262–267.
18. **Neill J.C.**, 1940: The edophyte of rye-grass (*Lolium perenne* L.). *New Zeal. Jour. Scien. and Technol.* 21, 280–291.
19. **Oertli J.J., Bergamin-Strotz L., Müller E.**, 1990: Die Bedeutung endophytischer Pilze. *Landw. Schweiz* 3/9, 465–467.
20. **Petrini O.**, 1991: Fungal endophytes of tree leaves. In: *Microbial Ecology of Leaves* Eds. J.H. Andrews, S.S. Hirano. New York: Springer. pp. 179–197.
21. **Petrini O., Müller E.**, 1986: Die praktische Bedeutung der Endophytenforschung. *Swiss Biotech* 4, 11–14.
22. **Petrini L.E., Petrini O., Laflamme G.**, 1989: Recovery of endophytes of *Abies balsamea* from needles and galls of *Paradiplosis tumifex*. *Phytoprotection* 70, 97–103.
23. **Prestidge R.A., Lauren D.R., van der Zijpp S.G., di Menna M.E.**, 1982: An association of *Lolium* endophyte with ryegrass resistance to Argentine stem weevil. *Proc. of the New Zealand Weed Pest Control Conference* 35, 199–202.
24. **Sieber T., Hugentobler C.**, 1987: Endophytische Pilze in Blättern und Ästen gesunder und geschädigter Buchen (*Fagus sylvatica* L.) *Eur. J. For. Path.* 17, 411–425.
25. **Skidmore A.M., Dickinson C.H.**, 1973: Effect of phylloplane fungi on the senescence of excised barley leaves. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 60, 107–116.
26. **Webber J., Gibbs J.N.**, 1984: Colonization of elm bark by *Phomopsis oblonga*. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 82, 348–352.
27. **Widler B., Müller E.**, 1984: Untersuchungen über endophytische Pilze von *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Sprengel (*Ericaceae*). *Bot. Helv.* 94/2, 307–337.
28. **Wood I.**, 1990: Plant fungus keeps its host in good health. *New Scientist*, March, 27.

29. **Wulf A.**, 1992: Pilzbedingte Blattkrankheiten an Ahorn unter besonderer Berücksichtigung des Bergahorns (*Acer pseudoplatanus* L.). Habilitationsschrift, Institut für Pflanzenschutz im Forst, Braunschweig, 140 S.

### **Summary**

The above-ground parts of plants undergo frequently to symptomless infections caused by endophytic fungi. It was found that this phenomenon is not indifferent to plants. It resulted from investigations carried out during the recent fifteen years that endophytes are of great importance for the life of plants, both negative and positive importance. The adverse impact on plants results mainly from: (a) a necessity to spend energy for keeping endophytes at life and to neutralize their toxins, (b) causing premature senescence of plant organs, (c) possibility to pass from a hidden life from to a clearly pathogenic one.

A favourable impact on plants results on its turn mainly from induction of positive changes in physiological processes in plants, and from participation in the system of protection of plants against biotic agents, mainly against fungi, insects, and nematodes.

The report pointed also out a diversity of mechanisms of endophyte impact on the agents mentioned above, a limitation of their population, as well as utilization of endophytes in biotechnology.