

**Zasiedlenie kostrzewy trzcinowej (*Festuca arundinacea* Schreb.)
przez *Neotyphodium coenophialum* oraz jego wpływ na rozwój
wybranych mikroorganizmów *in vitro*.**

DARIUSZ PAŃKA

Katedra Fitopatologii, Akademia Techniczno-Rolnicza w Bydgoszczy,
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz

Department of Phytopathology, University of Technology and Agriculture in Bydgoszcz,
20 Ks. A. Kordecki St., 85-225 Bydgoszcz, Poland

Infestation of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) with *Neotyphodium coenophialum*
and its influence on growth of chosen microorganisms *in vitro*.

(Otrzymano: 04.04.2005)

Summary

Occurrence of *Neotyphodium coenophialum* in tall fescue cultivars cultivated in Poland and determination of an endophyte inhibition effect on mycelium growth of chosen microorganisms *in vitro* were investigated. Seventeen seed lots of 11 cultivars of tall fescue were examined. The endophyte mycelium was dyed with bengal rose and microscopically examined to detect *N. coenophialum*. Occurrence of endophyte was checked with PCR method. Influence of endophyte on growth of 15 microorganisms was established in the laboratory conditions on Petri dishes with PDA medium at 10, 20 and 30°C. *Neotyphodium coenophialum* occurred only in two seed lots, 'Barrocco' – 42% and Terros – 2%. Living mycelium of endophyte was isolated only from 'Barrocco'. The highest mycelium growth inhibition of *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium avenaceum*, *F. equiseti*, *Microdochium nivale* and *Gaeumannomyces graminis* by endophyte at 30°C was recorded. The highest width of growth inhibition zone (4mm) was detected for the last pathogen. Mycelium growth of *B. sorokiniana* and *M. nivale* was not inhibited at 10°C, and for *F. avenaceum* at 10 and 20°C.

Key words: Endophyte, tall fescue, *Neotyphodium coenophialum*, *Festuca arundinacea*.

WSTĘP

Trawy, podobnie jak wiele innych roślin są często zasiedlane przez symbiotyczne mikroorganizmy – endofity, które zwykle rozwijają się w roślinie bezobjawowo. Najlepiej poznanymi i jednocześnie przynoszącymi roślinie-gospodarzowi największe korzyści są grzyby endofityczne z rodzaju *Neotyphodium* i *Epichloë*. Dając „schronienie” takiemu organizmowi, roślina otrzymuje w zamian m.in. większą konkurencyjność, lepszy wzrost, mniejszą podatność na stres suszy, większą odporność na żerowanie szkodników i porażenie przez patogeny (Malinowski i in., 2005, Popay i Bonos 2005).

Do asocjacji mających największe znaczenie zalicza się *Neotyphodium lolii* w życicy trwałej (*Lolium perenne* L.), *Neotyphodium uncinatum* w kostrzewie łąkowej (*Festuca pratensis* Huds.) oraz *Neotyphodium coenophialum* w kostrzewie trzcinowej (*Festuca arundinacea* Schreb.). Zainteresowanie nimi wynika nie tylko ze względu na korzyści jakie ma roślina, ale przede wszystkim z faktu obecności substancji toksycznych dla zwierząt gospodarskich w roślinach zasiedlonych przez endofita. Do najlepiej poznanych toksyn można zaliczyć m.in. ergovalinę, ergovalininę, ergotiaminę, lolitrem B, lolitriol. Mogą one być przyczyną np. „ryegrass staggers”, „fescue toxicosis”, „fescue foot”, które w sprzyjających warunkach doprowadzają nawet do śmierci zwierzęcia (Porter i Thompson, 1992; Thompson i Stuedemann, 1993; Cross, 2001). Choroby te są bardzo dobrze znane szczególnie w Stanach Zjednoczonych, Australii i Nowej Zelandii, gdzie corocznie powodują duże straty w produkcji zwierzęcej. Za korzystne oddziaływanie endofita na roślinę, są z kolei odpowiedzialne inne produkowane przez niego związki chemiczne. Najlepiej poznane to peramina i związki lolinowe. To one właśnie uważane są za główne czynniki warunkujące zwiększoną odporność na różne czynniki stresowe biotyczne i abiotyczne. Peramina hamuje przede wszystkim żerowanie różnych szkodników na roślinach zasiedlonych, związkom lolinowym przypisuje się natomiast wielokierunkowe działanie zmniejszające m.in. podatność roślin na zainfekowanie przez patogeny i żerowanie szkodników oraz zwiększające odporność na stres suszy (Johnson i in., 1985, West 1994; Siegel i Bush, 1996). Mechanizm odporności zasiedlonej rośliny na okresowe niedobory wody nie jest jednak do końca poznany (Malinowski i Belsky 2000). Ponadto rośliny z endofitem są bardziej konkurencyjne w stosunku do nie zasiedlonych, lepiej się krzewią i rosną.

Celem przeprowadzonych badań było określenie zasiedlenia uprawianych w Polsce odmian kostrzewy trzcinowej przez endofita – *N. coenophialum* oraz określenie jego wpływu na wzrost wybranych mikroorganizmów *in vitro*.

MATERIAŁ I METODY

Zasiedlenie kostrzewy trzcinowej przez *Neotyphodium coenophialum*

Do badań użyto nasion kostrzewy trzcinowej z różnych lat zbioru, dostarczonych przez hodowców oraz firmy nasienne. Wykaz testowanych odmian przedstawiono w tabeli 1.

Detekcję *N. coenophialum* przeprowadzono metodą mikroskopową po uprzednim wybarwieniu grzybni endofita w nasionach. Barwienie wykonano różem bengalskim według metodyki Saha i in. (1988). Z każdej próby pobierano 100 nasion i poddawano je procesowi barwienia. Wybarwione nasiona rozgniatano na szkiełkach mikroskopowych, a następnie przeglądano przy powiększeniu 100–400x dla określenia występowania grzybni endofita. Liczba nasion z endofitem była traktowana jako procent zasiedlenia badanej próby.

W celu potwierdzenia obecności *N. coenophialum* w nasionach, dla prób pozytywnych wykonano oznaczenie endofita metodą PCR według metodyki Doss'a i Welty'ego (1995). Izolację DNA przeprowadzono za pomocą DNeasy Plant Mini Kit firmy QIAGEN.

Dla sprawdzenia żywotności grzybni oraz wyizolowania endofita, wysiewano z każdej zasiedlonej partii po 150 nasion do wazonów z podłożem ogrodniczym. Po 6 tygodniach wzrostu wypreparowywano najniżej położoną, nie zaschniętą pochwę liściową i sprawdzano ją mikroskopowo (100–400x) pod kątem obecności grzybni endofita. W tym celu barwiono wewnętrzną epidermę pochwy liściowej różem bengalskim w sposób opisany przez Saha i in. (1988). Oznaczenie wykonywano na 100 roślinach. Liczbę roślin z *N. coenophialum* przyjmowano za procent ich zasiedlenia przez żywą grzybnię endofita.

Z roślin zasiedlonych, izolowano endofita na pożywkę PDA z dodatkiem penicyliny ($100 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$) i streptomycyny ($100 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$) (Eggestein i in., 1996). Wykładano w tym celu na płytce Petriego z w/w pożywką 5 mm długości skrawki pochew liściowych i inkubowano w 22°C , w ciemności. Po ok. 3 tygodniach odszczepiano wyrosłe kolonie endofita i zabezpieczano do dalszych badań.

Wpływ *Neotyphodium coenophialum* na wzrost mikroorganizmów

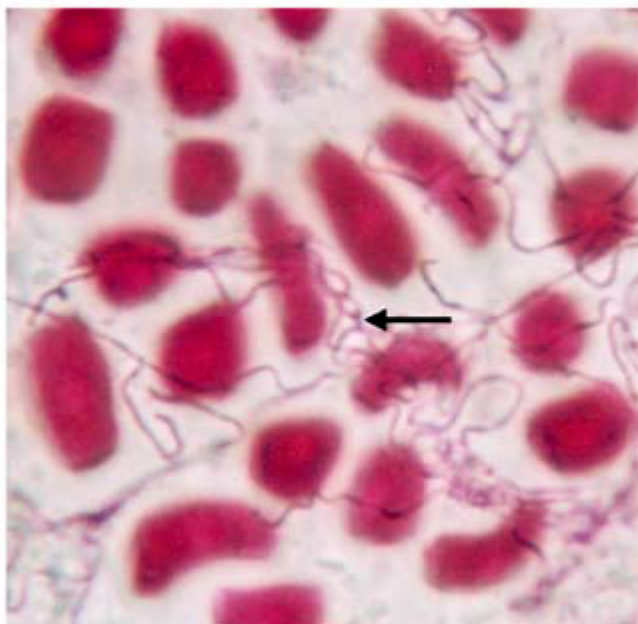
Dla określenia wpływu *N. coenophialum* na wzrost wybranych mikroorganizmów założono doświadczenie laboratoryjne według metodyki White'a i Cole'a (1985). Testowane grzyby pochodziły z ryzosfery, korzeni i źdźbeł traw z rodzaju *Festuca* (Tab. 2). Doświadczenie przeprowadzono na płytkach Petriego z pożywką PDA. Wykładano 5 mm średnicy krążki pożywki PDA z grzybnią endofita na środek płytki i inkubowano w 25°C , w ciemności do chwili osiągnięcia przez rosnącą kolonię o średnicy 10–15 mm. Następnie nakładano w peryferyjnej części płytki 5 mm krążek pożywki PDA z rosnącą grzybnią

testowanego mikroorganizmu. Po 14 dniach dalszej inkubacji dokonywano pomiarów strefy zahamowania wzrostu. Doświadczenie założono w temperaturze: 10, 20 i 30°C, po 5 powtórzeń w każdej (1 płytką to 1 powtórzenie).

WYNIKI

Zasiedlenie kostrzewy trzcinowej przez *Neotyphodium coenophialum*

W kolekcji odmian kostrzewy łąkowej zgromadzono łącznie 17 prób nasion. Ich zasiedlenie przez *N. coenophialum* było bardzo niskie (Tab. 1). Grzybnię endofita wykryto tylko w dwóch przypadkach: w próbach nasion odmian `Barrocco` i `Terros`. O obecności *N. coenophialum* świadczyło występowanie w warstwie aleuronowej nasion charakterystycznych, silnie poskręcanych, rzadko rozgałęzionych, rozwijających się w przestworach międzykomórkowych strzępek endofita (Fot. 1). Zasiedlenie próby nasion `Barrocco` było stosunkowo wysokie. Ponadto, nasiona tej odmiany zawierały żywą grzybnię *N. coenophialum*, która została wyizolowana. Nie wykryto żywej grzybni endofita w roślinach wyrosłych z zasiedlonych nasion odmiany `Terros`.



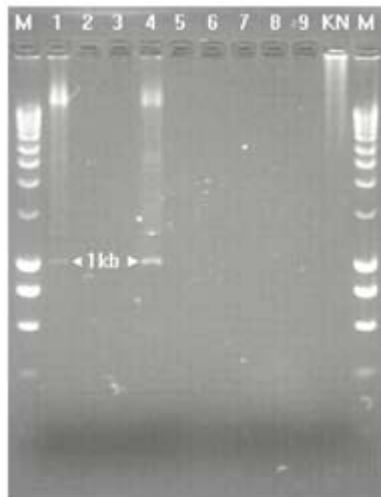
Fot. 1. Wybarwiona strzęпка *Neotyphodium coenophialum* (strzałka) w warstwie aleuronowej nasion kostrzewy trzcinowej, x 200.

Fig. 1. Dyed mycelium of *Neotyphodium coenophialum* (arrow) in aleuron layer of tall fescue seed, x 200.

Tabela 1
Występowanie *Neotyphodium coenophialum* w wybranych odmianach kostrzewy trzcinowej
Table 1
Occurrence of *Neotyphodium coenophialum* in selected tall fescue cultivars

Odmiana Cultivar	Liczba przetestowanych prób nasion Number of examined seed lots	Liczba prób nasion zasiedlonych/ procent zasiedlenia Number of colonized seed lots/ percentage of colonization	% roślin zasiedlonych % of colonized plants
Asterix	3	0	0
Barcel	1	0	0
Barnone	1	0	0
Barrocco	1	1/42	30
Cochise	1	0	0
Eldorado	1	0	0
Kord	2	0	0
Odys	1	0	0
Rahela	2	0	0
Skarpa	2	0	0
Terros	2	1/2	0

Potwierdzono metodą PCR występowanie *N. coenophialum* w nasionach `Barrocco` i `Terros`. Produkt amplifikacji o długości 1kb, który zaobserwowano na żelu agarozowym w studzienkach z naniesionym materiałem genetycznym wymienionych odmian świadczy o obecności DNA endofity w badanych próbach (Fot. 2).



Fot. 2. Identyfikacja *Neotyphodium coenophialum* w kostrzewie trzcinowej metodą PCR. M-wzorec masowy, 1–9 badane próby (1-`Terros`, 4-`Barrocco`), KN-kontrola negatywna
Fig. 2. Identification of *Neotyphodium coenophialum* in tall fescue seeds. M-molecular weight marker, 1–9 tested samples (1-`Terros`, 4-`Barrocco`), KN-negative control

Wpływ *Neotyphodium coenophialum* na wzrost mikroorganizmów

Łącznie testowano wpływ *N. coenophialum* w stosunku do 15 grzybów, z których większość należy do groźnych patogenów traw (Tab. 2). W temperaturze 30°C rozwój grzybni *B. sorokiniana*, *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *M. nivale* oraz *G. graminis* był w największym stopniu hamowany przez endofita. W przypadku ostatniego patogena zanotowano największą strefę zahamowania wzrostu – 4 mm. Rozwój *B. sorokiniana* i *M. nivale* nie był hamowany w temp. 10°C, a *F. avenaceum* w temp. 10 i 20°C, jednakże granica styku grzybni była wyraźna co świadczy o wzajemnym oddziaływaniu mikroorganizmów. *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*, *G. catenulatum*, *G. roseum*, *R. solani* i *T. viride* nie były hamowane przez endofita, wręcz odwrotnie, w różnym stopniu uniemożliwiały jego dalszy wzrost, a ich grzybnie swobodnie wrosła na grzybnię *N. coenophialum*, szczególnie w temperaturze 10 i 20 °C. W najwyższej temperaturze zaobserwowano na styku grzybni strefę słabego wzrostu endofita oraz *F. graminearum* i *F. poae*. W przypadku *Pythium* sp. nie zaobserwowano wzajemnego oddziaływania grzybni na siebie. Rozwijały się one bez przeszkód przerastając się swobodnie. W temp. 20 i 30°C endofit oraz *F. oxysporum* i *Drechslera* sp. oddziaływały na siebie wzajemnie, granica zetknięcia się grzybni była wyraźna.

Tabela 2

Wpływ *Neotyphodium coenophialum* na wzrost testowanych mikroorganizmów

Table 2

Influence of *Neotyphodium coenophialum* on growth of examined microorganisms

Mikroorganizm Microorganism	Średnia szerokość strefy zahamowania wzrostu [mm] Average width of zone of growth inhibition [mm]		
	10 C	20 C	30 C
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	0	1,0	3,2
<i>Drechslera</i> sp.	0	0	0
<i>Fusarium avenaceum</i>	0	0	0,8
<i>Fusarium culmorum</i>	0	0	0
<i>Fusarium equiseti</i>	1,4	2,2	2,8
<i>Fusarium graminearum</i>	0	0	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	0	0	0
<i>Fusarium poae</i>	0	0	0
<i>Gaeumannomyces graminis</i>	2,2	3,0	4,0
<i>Gliocladium catenulatum</i>	0	0	0
<i>Gliocladium roseum</i>	0	0	0
<i>Microdochium nivale</i>	0	1,0	2,0
<i>Pythium</i> sp.	0	0	0
<i>Rhizoctonia solani</i>	0	0	0
<i>Trichoderma viride</i>	0	0	0

DYSKUSJA

Kostrzewa trzcinowa nie należy do traw mających szczególnie duże znaczenie w Europie, w przeciwieństwie do Stanów Zjednoczonych czy Nowej Zelandii. Wyróżnia się jednak dużą trwałością i odpornością na niekorzystne warunki środowiska, stąd też jest wybierana do uprawy szczególnie na terenach trudnych. Obecność endofita w roślinach może dodatkowo zwiększać odporność kostrzewy trzcinowej na różne czynniki stresowe występujące w środowisku (M a l i n o w s k i i B e l e s k y 2000). Jej zasiedlenie przez *N. coenophialum* jest jednak bardzo rzadkie. Może wahać się w granicach od 0 do nawet 100%. Niski procent zasiedlenia jest charakterystyczny szczególnie dla kwalifikowanego materiału siewnego zarejestrowanych odmian różnych gatunków traw oraz plantacji krótko użytkowanych (C a p p e l l i i B u o n a u r i o 2001). W badaniach P f a n n m ö l l e r i i n. (1994) zasiedlenie kostrzew było bardzo niskie, gdyż na 153 przebadane próby tylko 17 zawierało endofita. Najwięcej (9) i w najwyższym stopniu (70%) były zasiedlone próby nasion kostrzewy łąkowej. Z kolei na 33 próby kostrzewy trzcinowej, tylko w 4 wykryto *N. coenophialum* z maksymalnym zasiedleniem, wynoszącym 32%. R i c c i o n i i n. (1994) badając zasiedlenie odmian kostrzewy trzcinowej we Włoszech otrzymali podobne rezultaty. Stwierdzili obecność endofita w 4 odmianach na 21 przebadanych, przy czym najsilniej zasiedlona była odmiana Titan (57%), pochodząca jednakże z USA. Rezultaty wcześniejszych badań własnych (P a ń k a i Ł u k a n o w s k i 2001; P a ń k a i S a d o w s k i 2002) nad zasiedleniem odmian życicy trwałej również potwierdzają otrzymane w niniejszej pracy wyniki niskiego poziomu występowania endofita w odmianach kostrzewy trzcinowej.

Znacznie wyższy procent zasiedlenia obserwuje się w naturalnych zbiorowiskach traw, oraz plantacjach użytkowanych przez wiele lat (F a e t h i n., 2001). W ä l i i n. (2001) badając takie zbiorowiska w Finlandii stwierdzili występowanie endofita w kostrzewie trzcinowej w 13 przypadkach na 15 przebadanych. Ich zasiedlenie natomiast było bardzo wysokie i wahało się w przedziale od 96 do 100%.

Niższa żywotność grzybni *N. coenophialum* w nasionach 'Barrocco' i całkowity brak żywej grzybni w 'Terros' były najprawdopodobniej spowodowane nieodpowiednim sposobem przechowywania nasion przez długi okres czasu (S i e g e l i n., 1985; R o l s t o n i n., 1986; D a p p r i c h i n., 1994). W h e a t l e y (2005) podaje, że przechowywanie nasion traw w warunkach otoczenia redukuje żywotność grzybni endofita do zera po okresie ok. 18–24 miesięcy. Obniżenie wilgotności powietrza do ok. 20–30% oraz temperatury do kilku stopni powyżej 0°C może znacznie przedłużyć żywotność endofita zapewniając jednocześnie dobre kiełkowanie nasion (C l e m e n t i n., 2004; M o y e r 2004).

Potwierdzenie obecności endofita metodą PCR, z użyciem specyficznych startarów pozwala na jednoznaczną jego identyfikację jako *N. coenophialum*, co potwierdzają liczne badania (L e u c h t m a n n i C l a y 1990; D o s s i W e l t y 1995).

Obecność endofita może zmniejszać podatność rośliny-gospodarza na porażenie przez patogeny i żerowanie szkodników (B a c o n i n., 1997). S c h m i d t (1994) zaobserwowała w swoich badaniach większą odporność kostrzewy

łąkowej z endofitem na infekcję przez niektóre patogeny rozwijające się na roślinach po wschodach. Jednocześnie stwierdziła, że rośliny z endofitem były bardziej podatne na porażenie przez patogeny powodujące przedwzrostową zgorzel siewek. Rośliny zasiedlone mogą wykazywać także mniejszą podatność na porażenie przez patogeny powodujące rdze i plamistości liści oraz wirusy (Lewis 1996a, 1996b). W przeprowadzonych badaniach stwierdzono hamujący wpływ *N. coenophialum* na wzrost grzybni niektórych patogenów w doświadczeniu laboratoryjnym, co pozwala przypuszczać, że w warunkach polowych takie działanie może być również widoczne. Potwierdzają to wcześniejsze badania własne, prowadzone w doświadczeniu poletkowym z kostrzewą łąkową zasiedloną przez *Neotyphodium uncinatum* (Pańka i in., 2004). Riccioni i in. (1994) badając wpływ *Acremonium coenophialum* (= *Neotyphodium coenophialum*) oraz innych *Acremonium* sp. izolowanych z kostrzewy trzcinowej na wzrost *Drechslera erytropsila* i *D. graminea* na pożywce PDA stwierdzili występowanie zarówno umiarkowanego wpływu hamującego (strefa zahamowania wzrostu 10–20 mm) jak i całkowitego braku wpływu. Uzyskane w przeprowadzonych badaniach wyniki wskazują na brak wpływu testowanego izolatu *N. coenophialum* na *Drechslera* sp. Zaobserwowano także brak hamującego wpływu na rozwój *T. viride*, *G. catenulatum* i *G. roseum* – grzybów wykazujących antagonistyczne działanie w stosunku do wielu patogenów. White i Cole (1985) zanotowali z kolei słaby, hamujący wpływ badanego izolatu *N. coenophialum* na wzrost *Trichoderma harzianum*.

Wpływ endofita na rozwój innych mikroorganizmów zależy w bardzo dużej mierze od jego genotypu i przynależności gatunkowej. Ponadto zależy także w dużym stopniu od genotypu rośliny – gospodarza. Również czynniki środowiskowe jak, np. temperatura, pH podłoża czy wilgotność, mają swój duży udział. Dlatego też, ostateczny efekt obecności endofita jest wypadkową działania wymienionych czynników i jest charakterystyczny dla konkretnej asocjacji endofit/roślina – gospodarz.

Przeprowadzone badania pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

- Zasiedlenie badanych odmian kostrzewy trzcinowej przez *Neotyphodium coenophialum* było bardzo niskie, tylko dwie próby nasion zawierały grzybnię endofita: `Barrocco` (42%) i `Terros` (2%).
- *Neotyphodium coenophialum* wpływał hamująco *in vitro* na wzrost grzybni *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium avenaceum*, *F. equiseti*, *Microdochium nivale* oraz *Gaeumannomyces graminis*, szczególnie w temperaturze 30°C.
- *Neotyphodium coenophialum* nie hamował *in vitro* wzrostu pożytecznych mikroorganizmów: *Trichoderma viride*, *Gliocladium catenulatum* i *G. roseum*.

LITERATURA

- Bacon C.W., Richardson M.D., White J.F., 1997. Modifications and uses of endophyte-enhanced turfgrasses – A role for molecular technology. *Crop Sci.* 37: 1415–1425.

- Cappelli C., Buonauro R., 2001. Occurrence of endophytic fungi in grass seeds and plants in Italy. In: Paul V.H. and Dapprich P.D. (eds) Proceedings of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany, 27-29 September 2000: 131–137.
- Clement S.L., Youssef N.N., Bruehl G.W., Kaiser W.J., Elbersen L.R., Bradley V., 2004. Effects of different storage temperatures on grass seed germination and *Neotyphodium* survival. In: Kallenbach, R., Rosenkrans, C. Jr., Lock, T.R. (eds), Proceedings of the 5th International Symposium on *Neotyphodium*/Grass Interactions, Fayetteville, AR, USA, May 23-26, 2004, #511: 163–165.
- Cross D.L., 2001. Toxic effects of *Neotyphodium coenophialum* in cattle and horses. In: Paul V.H. and Dapprich P.D. (eds) Proceedings of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany, 27-29 September 2000: 219–235.
- Dapprich P., Klose A., Paul V.H. 1994. A survey on the occurrence of endophytic fungi in European seed lots of *Lolium perenne*. IOBC/WPRS Bulletin 17(1): 131–137.
- Doss R.P., Welty R.E., 1995. A polymerase chain reaction-based procedure for detection of *Acremonium coenophialum* in tall fescue. Phytopathology, 85, 8: 913–917.
- Eggstein St., Pfannmüller M., Schöberlein W., 1996. *Acremonium* spp. – occurrence in cultivars and collected ecotypes of genus *Festuca*. IOBC/WPRS Bulletin, 19(7): 161–167.
- Faeth S.H., Sullivan T.J., Hamilton C.E., 2001. What maintains high levels of *Neotyphodium* endophytes in native grasses? A dissenting view and alternative hypotheses. In: Paul V.H. and Dapprich P.D. (eds) 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany, 27-29 September 2000: 65–69.
- Johnson M.C., Dahlmann D.L., Siegel M.R., Bush L.P., Latch G.C.M., Potter D.A., Varney D.R., 1985. Insect feeding deterrents in endophyte infected tall fescue. Plant Dis. 70: 380–382.
- Leuchtman A., Clay K., 1990. Isozyme variation in *Acremonium/Epichloë* fungal endophyte complex. Phytopathology 80: 1133–1139.
- Lewis G.C., 1996a. A review of research on endophytic fungi worldwide, and its relevance to European grassland, pastures and turf. IOBC/WPRS Bulletin 19(7): 17–24.
- Lewis G.C., 1996b. Effect of cutting height on perennial ryegrass with and without infection with endophyte and ryegrass mosaic virus. IOBC/WPRS Bulletin 19(7): 55–58.
- Malinowski D.P., Belesky D.P., 2000. Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: Mechanisms of drought and mineral stress tolerance. Crop Sci. 40: 923–940.
- Malinowski D.P., Belesky D.P., Lewis G.C., 2005. Abiotic stresses in endophytic grasses. In: Roberts C.A., West C.P., Spiers D.E. (eds), *Neotyphodium* in cool-season grasses. Blackwell Publ.: 187–199.
- Moyer J.L., 2004. Humidity reduces tall fescue seed-borne endophyte viability. In: Kallenbach, R., Rosenkrans, C. Jr., Lock, T.R. (eds), Proceedings of the 5th International Symposium on *Neotyphodium*/Grass Interactions, Fayetteville, AR, USA, May 23–26, 2004, #515: 172–174.
- Pańka D., Łukanowski A., 2001. Occurrence of *Acremonium lolii* in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivated in the Kujawy and Pomerania region of Poland. In: Paul V.H. and Dapprich P.D. (eds), Proceedings of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany, 27-29 September 2000: 419–421.

- Pańka D., Sadowski Cz., 2002. Occurrence of fungal endophytes in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars in Poland. In: Durand, J.L., Emile, J.C., Huyghe, C., Lemaire, G. (eds), Multi-function Grasslands, Quality Forages, Animal Products and Landscapes. Grassl. Sci. Eur., 7: 540–541.
- Pańka, D., Podkówka, L., Lamparski, R., 2004. Preliminary observations on the resistance of meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds.) infected by *Neotyphodium uncinatum* to diseases and pests and nutritive value. In: Kallenbach, R., Rosenkrans, C. Jr., Lock, T.R. (eds), Proceedings of the 5th International Symposium on *Neotyphodium*/Grass Interactions, Fayetteville, AR, USA, May 23–26, 2004, #401: 88–90.
- Pfannmöller M., Eggstein S., Schöberlein W., 1994. Endophytes in European varieties of *Festuca* species. IOBC/WPRS Bulletin 17(1): 105–109.
- Popay A.J., Bonos S.A., 2005. Biotic responses in endophytic grasses. In: Roberts C.A., West C.P., Spiers D.E. (eds), *Neotyphodium* in cool-season grasses. Blackwell Publ.: 163–185.
- Porter J.K., Thompson F.N. Jr, 1992. Effects of fescue toxicosis on reproduction in livestock. J. Anim. Sci. 70: 1594–1603.
- Riccioni L., Monopoli V., Odoardi M., 1994. Endophytic fungi in tall fescue in Italy. IOBC/WPRS Bulletin 17(1): 127–130.
- Rolston M.P., Hare M.D., Moore K.K., Christensen M.J., 1986. Viability of *Lolium* endophyte fungus in seed stored at different moisture contents and temperatures. New Zealand J. Exp. Agric., 14: 297–300.
- Saha D.C., Jackson M.A., Johnson-Cicalese J.M., 1988. A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grasses. Phytopathology 78 (2):237–239.
- Schmidt D., 1994. Du nouveau sur les endophytes de la fêtuque des prés. Rev. Suisse Agric. 26: 57–63.
- Siegel M.R., Bush L.P., 1996. Defensive chemicals in grass-fungal endophyte associations. Recent Adv. Phytochem. 30: 81–118.
- Siegel M.R., Latch G.C.M., Johnson M.C., 1985. *Acremonium* fungal endophytes of tall fescue and perennial ryegrass: Significance and control. Plant Dis. 69(2): 179–183.
- Thompson F.N., Stuedeman J.A., 1993. Phytophysiology of fescue toxicosis. Agric. Ecosyst. Envir. 44: 263–281.
- Wäli P., 2001. Seed transmitted endophytic fungi in wild grass populations in Finland. In: Paul V.H. and Dapprich P.D. (eds), Proceedings of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany, 27–29 September 2000: 93–96.
- West C.P., 1994. Physiology and drought tolerance of endophyte-infected grasses. In: Bacon C.W. & White Jr. J.F. (eds), Biotechnology of endophytic fungi of grasses. CRC Press: 87–99.
- Wheatley W.M., 2005. Endophytes, quality assurance, and the seed trade in eastern Australia. In: Roberts C.A., West C.P., Spiers D.E. (eds), *Neotyphodium* in cool-season grasses. Blackwell Publ.: 351–360.
- White Jr, J.F., Cole, G.T., 1985. Endophyte host associations in forage grasses III. In vitro inhibition of fungi by *Acremonium coenophialum*. Mycologia 77: 487–489.

Streszczenie

Badania przeprowadzono w celu określenia zasiedlenia uprawianych w Polsce odmian kostrzewy trzcinowej przez endofita – *Neotyphodium coenophialum* oraz określenie jego wpływu na wzrost wybranych mikroorganizmów *in vitro*. Przetestowano 17 prób nasion 11 odmian kostrzewy trzcinowej. Grzybnie endofita wykrywano metodą mikroskopową po uprzednim wybarwieniu różem bengalskim. Obecność *N. coenophialum* potwierdzano metodą PCR. Badanie wpływu endofita na wzrost wybranych 15 mikroorganizmów przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych na płytkach Petriego z pożywką PDA w temperaturach: 10, 20 i 30°C. Endofita wykryto tylko w dwóch próbach nasion odmian Barrocco (42%) i Terros (2%). Żywą grzybnie *N. coenophialum* wyizolowano z roślin wyrosłych z zasiedlonych nasion odmiany Barrocco. W temperaturze 30°C zaobserwowano największy hamujący wpływ endofita na wzrost grzybni *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium avenaceum*, *F. equiseti*, *Microdochium nivale* oraz *Gaeumannomyces graminis*. W przypadku ostatniego patogena zanotowano największą strefę zahamowania wzrostu – 4 mm. Rozwój *B. sorokiniana* i *M. nivale* nie był hamowany w temp. 10°C, a *F. avenaceum* w temp. 10 i 20°C.

VACAT