

Barbara Abramczyk, Anna Gałązka

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach*

POZYTYWNY WPŁYW GRZYBÓW ENDOFITYCZNYCH
NA ROŚLINĘ GOSPODARZA*

Słowa kluczowe: fitopatogen, endofit, grzyb, roślina, metabolity wtórne

Wstęp

Na przestrzeni kilku ostatnich dekad, naukowcy dostrzegli ogromny potencjał roślin jako skarbcza niezliczonych ilości organizmów zwanych endofitami.

Słowo endofit pochodzi od dwóch greckich słów: *endon* – oznacza wewnątrz, a *phyton* – roślinę. Przypuszcza się, że wszystkie rośliny wyższe są gospodarzami dla jednego lub większej liczby drobnoustrojów endofitycznych. Te drobnoustroje obejmują zarówno grzyby, bakterie jak i promieniowce (4, 14).

Po raz pierwszy o endofitach wspomniął De Bary w XIX wieku (11), określając tym mianem wszystkie organizmy występujące w tkankach roślinnych. Natomiast Wilson (54), określił endofity jako grzyby, które żyją wewnątrz rośliny, nie powodując objawów przynajmniej przez część swojego cyklu życiowego. Grzyby endofityczne, które bezobjawowo kolonizują tkanki roślinne, mogą wywodzić się z gatunków patogenicznych, które utrzymują ciągłą równowagę między patogenicznością w stosunku do rośliny żywicielskiej, a mechanizmami obronnymi tejże rośliny (37, 26, 18).

Wiele roślin uprawnych zdolnych jest do nawiązania asocjacji z endofitami, dzięki którym poprawia się ich wzrost, zwiększa plonowanie, a także odporność na różnego rodzaju czynniki stresowe (25).

Większość grzybów endofitycznych jest rozprzestrzenianych na sąsiednie rośliny na drodze tzw. transmisji poziomej, za pomocą zarodników. Niektóre natomiast przenoszą się na kolejne pokolenia roślin wraz z nasionami (transmisja pionowa), przy czym grzyby te mogą nie wykazywać zdolności do życia poza rośliną żywicielską (21).

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.4 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

Mimo, że wzrost endofitów jest ściśle ograniczany przez rośliny, to wykorzystują one wiele mechanizmów, dzięki którym stopniowo dostosowują się do swojego środowiska życia (13).

Grzyby endofityczne wpływają bardzo korzystnie na roślinę żywicielską indukując odporność na stres (28, 32), promują jej wzrost (8) oraz chronią przed szkodnikami, patogenami oraz nicieniami (24, 21, 25, 14).

Opracowanie najnowszych technologii ujawniło ogromny potencjał endofitów jako ważnego źródła biologicznie aktywnych związków oraz możliwość ich zastosowania w aspekcie biologicznej ochrony roślin (57, 2).

Wykazano bowiem, że większość produktów naturalnych wydzielanych przez grzyby endofityczne posiada aktywność przeciwbakteryjną, a w wielu przypadkach biorą one również udział w ochronie roślin gospodarzy przed fitopatogenami grzybowymi (19).

Zakres roślin gospodarzy

Badania ostatnich 20 lat, które dotyczyły przeglądu grzybów zasiedlających różne rośliny żywicielskie, wykazały wszechobecną kolonizację roślin lądowych przez endofity. Izolowano je z roślin bytujących w różnorodnych siedliskach, począwszy od arktycznych, górskich czy pustynnych, a skończywszy na tropikalnych lasach. Grzyby endofityczne wyosobniono z mchów i wątrobowców, paproci, licznych roślin okrytonasiennych i nagonasiennych (57).

Większość grzybów endofitycznych uważa się za gatunkowo-specyficzne, to znaczy kolonizujące określony gatunek rośliny gospodarza. Zjawisko to może wynikać z wpływu danego mikroklimatu (3, 22, 37). Istnieją również gatunki polifagiczne, należące głównie do rodzaju *Phomopsis*, *Phoma*, *Colletotrichum* i *Phyllosticta*, które posiadają szeroki zakres roślin gospodarzy, często niespokrewnionych taksonomicznie (34, 23, 33, 42). Wskazuje to na wykształcone zdolności adaptacyjne do pokonywania zróżnicowanych mechanizmów obronnych rośliny gospodarza (51).

Izolacja endofitów

Grzyby endofityczne pozyskuje się z różnych organów wielu gatunków roślin, w związku z tym kluczowe jest poznanie zasad dotyczących wyboru odpowiedniej rośliny i sposobu izolowania endofitów. Jako potencjalne źródło endofitów wybieramy gatunki roślin interesujące pod względem swojej unikalnej biologii, wieku, etnobotanicznej historii czy też uwarunkowania środowiskowego. Ponadto dowiedziono również, że rośliny wieloletnie rosnące w tropikalnych i subtropikalnych regionach świata są zasiedlane przez większą różnorodność endofitów niż te rosnące w suchych lub chłodniejszych rejonach o mniejszym zróżnicowaniu pod względem roślinnym. Jest to ważny krok w całym procesie pozyskiwania i studiowania endofitów,

ponieważ stanowi biologiczne uzasadnienie w doborze roślin i eliminuje całkowicie nadmiar pracy związany z losowym sposobem przeszukiwania wszystkich roślin na danym obszarze (48).

Do wykrywania i identyfikacji grzybów w tkankach roślinnych stosuje się obecnie cztery metody:

- (1) obserwacja morfologiczna w połączeniu z metodami molekularnymi;
- (2) wykładanie materiału roślinnego poddanego sterylizacji na selektywnych pożywkach wzrostowych i identyfikacja wyrastających grzybów;
- (3) identyfikacja na podstawie określonych testów biochemicznych, np. metody immunologiczne;
- (4) bezpośrednia amplifikacja DNA pochodzącego z grzybów kolonizujących tkanki roślinne po uprzednim stwierdzeniu, że na powierzchni badanych roślin nie ma żadnych pozostałości grzybów (38).

Najbardziej znaną i standardową procedurę izolacji opisują *Strobel* (48) oraz *Abdalla i Matasyoh* (1). Po wybraniu odpowiedniej rośliny pobierany jest jej mały fragment, umieszczany jest w worku z tworzywa sztucznego i przechowywany do dalszych badań w temperaturze 4 °C. Następnie materiał roślinny poddawany jest sterylizacji powierzchniowej w 70% etanolu, przemywany sterylną wodą destylowaną i przetrzymywany aż do wyschnięcia pod wyciągiem laminarnym. Następnie, przy użyciu sterylnego skalpela, usuwane są z próbek tkanki zewnętrzne i ostrożnie wycinany fragment tkanki wewnętrznej, który następnie umieszcza się w szalkach z pożywką agarową. Po kilku dniach inkubacji wyrosłe strzępki grzybów są przeszczepiane do szalek z zestaloną pożywką, np. glukozowo-ziemniaczaną (PDA); (48, 1).

Warto zauważyć, że różne metody izolacji, w tym dobór odpowiedniej pożywki, wielkość fragmentów tkanek rośliny żywicielskiej, czas jaki upłynął od pozyskania materiału roślinnego a nawet warunki uprawy, mogą w znacznym stopniu wpływać na skuteczność izolacji oraz różnorodność uzyskanych endofitów (3, 50).

Wykazano, że liczba gatunków grzybów endofitycznych izolowanych z tkanki liściowej znacznie wzrosła, gdy liść został pokrojony na mniejsze kawałki.

Najczęściej opisywane endofity grzybowe izolowane z roślin należą do typu *Ascomycota* lub stanowią jego anamorfy (46, 25). Istnieje jedynie kilka doniesień o grzybach endofitycznych typu *Basidiomycota* i są to najczęściej gatunki tworzące mykoryzę z roślinami z rodziny *Orchidiaceae* (36). *Rodriguez i in.* (35) podzielił grzyby endofityczne na dwie grupy: *Clavicipitaceous* (C), które zasiedlają trawy i *Non-Clavicipitaceous* (NC-endofity), które żyją bezobjawowo w tkankach różnych roślin. NC-endofity reprezentują trzy różne klasy funkcjonalne wydzielone na podstawie sposobu kolonizacji i transmisji w roślinie żywicielskiej, bioróżnorodności w roślinie oraz korzyści jakie oferują swojemu gospodarzowi (35).

Wpływ endofitów na roślinę gospodarza

Endofity mogą wpływać na zasiedlaną przez siebie roślinę w sposób pośredni i bezpośredni. Pośredni wpływ endofita na odporność rośliny związany jest z indukowaniem w roślinie mechanizmów obronnych, takich jak indukcja odporności lub synteza metabolitów wtórnych. Wpływ ten może być również związany z konkurencją między endofitem a patogenem o niszę ekologiczną. Z kolei bezpośrednie oddziaływanie grzybów endofitycznych na roślinę gospodarza polega na syntezie przez endofita różnych związków o działaniu owadobójczym, fungicydalnym lub nicieniobójczym. Są to między innymi terpenoidy, alkaloidy, związki aromatyczne, a także enzymy lityczne, zdolne do rozkładu chityny, białek, celulozy, hemicelulozy lub DNA (16, 25).

Metabolity syntezowane przez grzyby endofityczne

Badania chemiczne ostatnich lat wykazały, że grzyby endofityczne stanowią źródło cennych metabolitów wtórnych (tab.1). Niektóre z tych związków wpływają na wzrost i rozwój rośliny żywicielskiej, a inne wykazują właściwości owadobójcze, przeciwrzybicze oraz przeciwbakteryjne (19, 21, 2, 14).

Tabela 1

Grzyby izolowane jako endofity z różnych roślin gospodarzy oraz wydzielane przez nie metabolity wykazujące aktywność biologiczną

Endofit	Roślina gospodarz	Metabolit	Działanie	Źródło
<i>Neotyphodium</i> spp.	<i>Lolium perenne</i> , <i>Festuca pratensis</i>	peramina	toksyczna dla szkodników, jednocześnie nie wywiera wpływu na zwierzęta gospodarcze	Spiering i in., 2002 (45)
<i>Neotyphodium uncinatum</i> ,	<i>Festuca pratensis</i>	lolina	owadobójcze	Blankenship i in., 2001 (6)
<i>Cryptosporiopsis quercina</i> (anamorfa: <i>Pezicula cinamomea</i>)	<i>Tripterigeum wilfordii</i>	różne związki	antygrzybowe m.in. w stosunku do <i>Cryptosporiopsis albicans</i>	Strobel i in., 1999 (47)
<i>Talaromyces flavus</i>	<i>Sonnertia apetala</i>	talaroperoides AD	antygrzybowe	Li i in., 2011 (30)
<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Terminalia</i> spp.	pestacin, isopestacin	antydrobnoustrojowe, antyoksydacyjne	Harper i in., 2003 (20)
<i>Botrytis</i> sp.	korzenie powietrzne <i>Ficus benghalensis</i>	amylaza, lakaza, alkaloidy, flawonoidy, saponiny, steroidy, terpenoidy	hamująco na <i>E. coli</i> i <i>Klebsiella</i>	Senthilmurugan i in., 2013 (40)
<i>Phomopsis phaseoli</i>	Liście drzew tropikalnych	3-hydroxypropionic acid	nicieniobójcze	Schwarz i in., 2004 (39)

<i>Acremonium zeae</i>	<i>Zea maida</i>	alkaloidy	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Fusarium verticillioides</i>	Webber, 1981 (53)
<i>Nodulisporium</i> sp.	<i>Juniperus cedre</i>	flawonoidy, steroidy	antybakteryjne <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Microbotryum violaceum</i> , <i>Septoria tritici</i>	Dai i in., 2006 (9)
<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Artemisia annua</i>	steroidy	antygrzybowe (<i>Phytophthora capsici</i> , <i>Rhizoctonia cerealis</i> , <i>Gaeumanomyces graminis</i> var. <i>tritici</i> , <i>Helminthosporium sativum</i>)	Lu i in., 2000 (31)
<i>Phomopsis cassiae</i>	<i>Cassia spectabilis</i>	terpenoidy	antygrzybowe (<i>Cladosporium sphaerospermum</i> , <i>C. cladosporioides</i>)	Silva i in., 2006 (43)
<i>Cytospora</i> sp.	<i>Conocarpus erecta</i>	cytosporon (A-E)	antygrzybowe, antybakteryjne, cytotoksyczne	Brady i in., 2000 (7)
<i>Melanconium betulinum</i>	<i>Betula pendula</i>	3-hydroxypropionic acid	nicieniobójcze	Schwarz i in., 2004 (39)

Źródło: opracowanie własne

Prawdopodobnie Webber (53) jako pierwszy podał przykład endofitycznego grzyba, *Phomopsis oblonga*, zasiedlającego tkanki wiązków (*Ulmus*) i wykazał jego ochronne działanie przed tzw. holenderską chorobą wiązu, powodowaną przez grzyba *Ceratocystis ulmi*. *P. oblonga* poprzez produkcję mykotoksyn i alkaloidów ograniczał występowanie wektora patogenu, którym jest chrząszcz (*Physocnemum brevilineum*).

Z kolei Daisy i in. (10) wyizolowali z rośliny *Paullinia paullinioides* endofityczny szczep *Muscodor vitigenus*, wydzielający naftalen, który może być stosowany jako typowy środek przeciw molom. Obiecujące okazały się również wstępne wyniki, które wykazały repelentne działanie naftalenu w stosunku do błonkówki *Cephus cinctus* na pszenicy (10).

Endofity z rodzaju *Neotyphodium* zasiedlające kostrzewy i życię trwałą syntetyzują peraminę, która jest toksyczna dla szkodników, jednocześnie nie wywiera wpływu na zwierzęta gospodarcze (25).

Grzyby endofityczne znane są również ze swoich właściwości antygrzybowych. Kumari i in. (27), zbadali aktywność biologiczną endofitycznych grzybów, takich jak *Dothideomycetes* sp., *Alternaria tenuissima*, *Thielavia subthermophila*, *Alternaria*

sp., *Nigrospora oryzae*, *Colletotrichum truncatum* i *Chaetomium* sp., wyizolowanych z leczniczej rośliny *Tylophora indica*, w stosunku do *Sclerotinia sclerotiorum* i *Fusarium oxysporum*. Gatunki tych grzybów endofitycznych zdecydowanie wykazywały właściwości antygrzybowe, hamując wzrost i rozwój grzybów fitopatogenicznych.

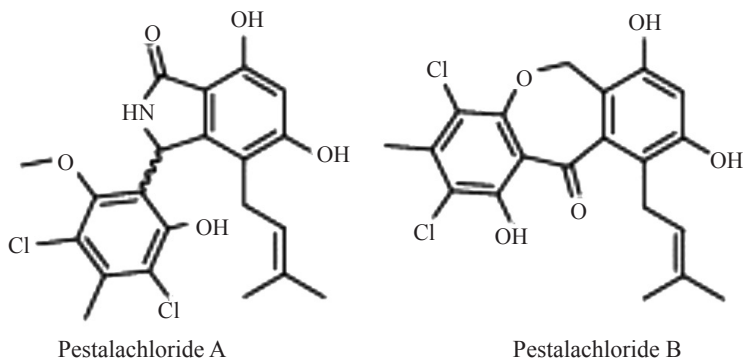
Endofity kolonizujące tkanki roślinne produkują enzymy hydrolizujące ściany komórkowe jak: β -1,3- glukanazy, chitynazy czy celulazy, dzięki którym dostają się do wnętrza tkanek roślin. Enzymy te również bezpośrednio oddziałują na fitopatogeny degradując ich ściany komórkowe (17). Wiele komercyjnie ważnych enzymów wytwarzanych jest przez mikroorganizmy glebowe. Poszukiwania alternatywnych źródeł tych związków doprowadziły do odkrycia cennych enzymów produkowanych przez endofity (40, 5)

Senthilmurugan i in. (40) wyizolowali endofityczny *Botrytis* sp. z korzeni powietrznych figowca bengalskiego w Indiach. Kultury tego grzyba produkowały enzymy: amylazę i lakazę., które wraz z innymi bioaktywnymi substancjami wydzielanymi przez *Botrytis* sp. takimi jak: alkaloidy, flawonoidy, saponiny, steroidy i terpeny, hamowały *E. coli* i *Klebsiella*.

Grzyby endofityczne, takie jak: *Acremonium terricola*, *Aspergillus japonicas*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Fusarium lateritium*, *Monodictys castaneae*, *Nigrospora sphaerica*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium glandicola*, *Pestalotiopsis guepinii*, *Phoma tropica*, *Phomopsis archeri*, *Tetraploa aristata*, *Xylaria* sp. i wiele innych niezidentyfikowanych gatunków izolowanych z *Opuntia ficus-indica* Mill. wykazały obiecujący potencjał wdrożeniowy wytwarzania pektynazy, celulazy, ksylanazy i proteazy (5).

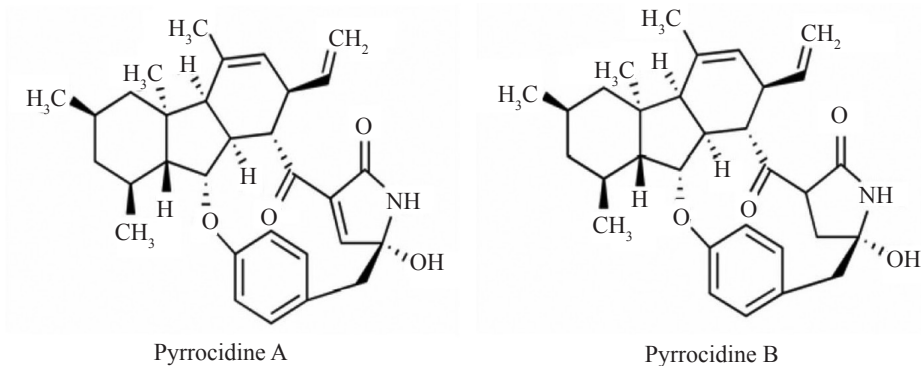
Wtórne produkty metabolizmu mikroorganizmów, które działając wybiórczo w niskich stężeniach wpływają na struktury komórkowe lub procesy metaboliczne innych mikroorganizmów, hamując ich wzrost i podziały to antybiotyki (12).

Dwa nowe antybiotyki, pestalachloride A i B, pozyskane z endofitycznego grzyba *Pestalotiopsis adusta*, wykazały znaczącą bioaktywność wobec trzech fitopatogenów *Fusarium culmorum*, *Gibberella zeae* i *Verticillium albo atrum*); (rys. 1); (20).



Rys. 1. Struktura chemiczna pestalachloride A i B wyizolowanych z *Pestalotiopsis adusta*
Źródło: Li i in., 2008 (29)

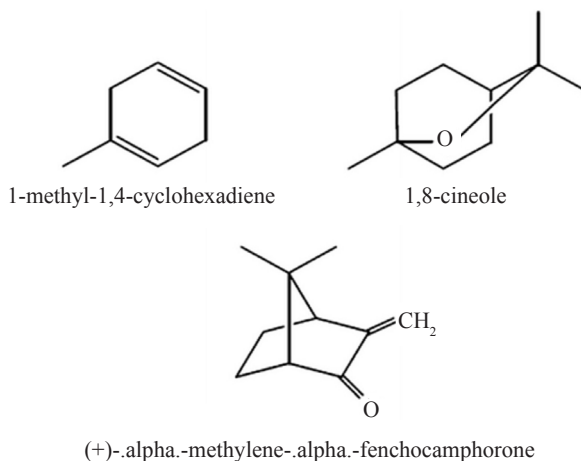
Ponadto, antybiotyki pyrrocidine A i B wytwarzane przez endofit kukurydzy *Acremonium zeae* wykazały aktywność przeciwko groźnym patogenom kukurydzy *Aspergillus flavus* i *Fusarium verticillioides* (rys. 2).



Rys. 2. Struktura chemiczna pyrrocidine A i B wyizolowanych z *Acremonium zeae*

Źródło: Wicklow i in., 2005 (54)

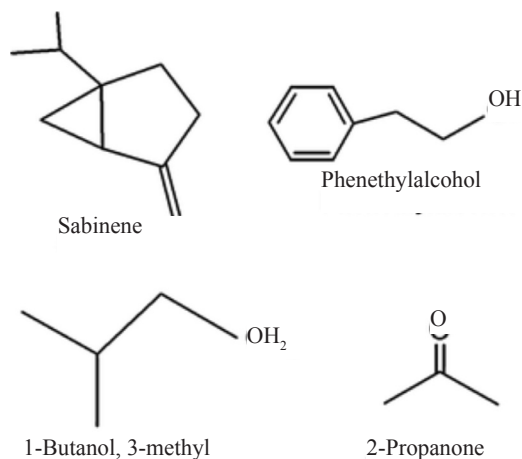
Hypoxylon sp. jest endofitycznym grzybem wyizolowanym z *Persea indica*, który wytwarza imponujące spektrum lotnych związków organicznych, zwłaszcza 1,8-cineole, 1-methyl-1,4-cyclohexadiene oraz wstępnie określone alpha-methylene-alpha-fenchocamphorone i wiele innych, jeszcze niezidentyfikowanych. Związki te wykazują bardzo wysoką bioaktywność wobec *Botrytis cinerea*, *Phytophthora cinnamomi*, *Cercospora beticola* i *Sclerotinia*. Przepuszczalnie, mogą odgrywać pewną rolę w biologii endofitu i mieć wpływ na jego przeżycie w roślinie gospodarzu (rys. 3); (52).



Rys. 3. Struktura chemiczna wybranych lotnych związków organicznych wyizolowanych z *Hypoxylon* sp.

Źródło: Tomscheck i in., 2010 (52)

Phomopsis sp. szczep (EC-4) wyizolowano jako endofit z *Odontoglossum* sp. (f. *Orchidaceae*) w rezerwacie leśnym w Północnym Ekwadorze. Grzyb ten tworzy unikalną mieszankę lotnych związków organicznych w tym sabinene (monoterpen o zapachu pieprzu) notowany wcześniej tylko u roślin wyższych (rys. 4); (44). Przy pomocy chromatografii gazowej zarejestrowano, że *Phomopsis* sp. (EC-4) wytwarza oprócz sabinene jeszcze inne substancje, takie jak: 1-butanol, 3-methyl, 1-propanol, 2-methyl- i benzenethanol, 2-propanone, które mogą być wykorzystywane do produkcji paliw (44). Badacze dowiedli, że wspomniane związki lotne posiadają również właściwości antygrzybowe wobec szerokiego zakresu fitopatogenów: m.in.: *Pythium*, *Phytophthora*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Verticillium* i *Colletotrichum* (44).



Rys. 4. Struktura chemiczna wybranych lotnych związków organicznych wyizolowanych z *Phomopsis* sp. (EC-4)
Źródło: Singh i in., 2011 (44)

Muscodor albus to endofityczny grzyb wyizolowany z małych konarów drzewa cynamonowego *Cinnamomum zeylanicum* (56). Należący do rodziny Xylariaceae (nie zarodnikujący) grzyb wytwarza mieszaninę związków lotnych, dzięki którym skutecznie hamuje a nawet zabija niektóre grzyby i bakterie (49). Większość z tych związków została zidentyfikowana metodą chromatografii gazowej. Następnie sporządzono sztuczną mieszaninę, imitującą antybiotyczny efekt lotnych związków wytwarzanych przez grzyba (49). Każdy z pięciu klas związków lotnych wytwarzanych przez grzyba wykazywał pewne działanie hamujące przeciw grzybom i bakteriom testowym, ale żaden nie był śmiertelny. Jednak wspólnie działały synergicznie, przyczyniając się do śmierci szerokiego spektrum patogenów roślin i ludzi.

Najbardziej skutecznym, hamującym związkiem był octan izoamylu, który wykazał największą bioaktywność. Efekty ekologiczne i potencjalne praktyczne korzyści z „mykofumigacji” *M. albus* są bardzo obiecujące w zastosowaniu rolniczym (48).

Oprócz patogenów i szkodników atakujących uprawy rolnicze, dużym problemem są również nicienie. Ze względu na swoje znaczne zróżnicowanie i zakres roślin żywicielskich, w stosunku do różnych gatunków należy stosować różnorodną ochronę, zarówno chemiczną, jak i biologiczną, co wymaga specjalistycznej wiedzy i nakładów finansowych. Dlatego grzyby endofityczne mogą stanowić alternatywę w ochronie roślin przed tymi organizmami (25).

Shahasi i in. (41) wyizolowali 9 endofitycznych szczepów *F. oxysporum*, które następnie przebadali pod kątem produkcji drugorzędnych metabolitów antagonistycznych w stosunku do *Radopholus similis* w warunkach laboratoryjnych. Wyniki potwierdziły możliwość stosowania endofitycznych szczepów *F. oxysporum* jako potencjalnego środka nicieniobójczego (41).

Z kolei w badaniach Yan i in. (57) wykazano, że spośród 294 izolatów grzybów endofitycznych pozyskanych z sadzonek ogórka, 23 odznaczało się hamującym działaniem w stosunku do nicienia *Meloidogyne incognita* w warunkach szklarniowych. Wśród najskuteczniejszych znalazły się: *Fusarium*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Acremonium*, *Paecilomyces* i *Phyllosticta*. Natomiast *Chaetomium* Ch1001 wykazał największy potencjał jako środek biologiczny do zaprawiania nasion przeciwko *M. incognita*.

Podsumowanie

Z uwagi na korzyści jakie płyną z symbiozy grzybów endofitycznych z roślinami, oraz fakt, iż są one źródłem cennych metabolitów wykazujących aktywność biologiczną wobec różnych fitofagów, cieszą się dużym zainteresowaniem w aspekcie integrowanej ochrony roślin.

Obecnie szacuje się, że każdy z prawie 300 000 istniejących gatunków roślin na świecie jest gospodarzem dla co najmniej jednego szczepu endofitycznego. Wykorzystanie tych mikroorganizmów m.in. na potrzeby integrowanej ochrony roślin wymaga jednak jeszcze wielu lat badań nad skomplikowanymi zależnościami pomiędzy rośliną, endofitem a fitofagiem, ale obserwowany obecnie intensywny rozwój metod badawczych przyczyni się być może do szybszego poznania tych interakcji i oceny możliwości ich zastosowania w praktyce rolniczej.

Literatura

1. Abdalla M.A., Matasyoh J.C.: Endophytes as producers of peptides: an overview about the recently discovered peptides from endophytic microbes. Nat. Prod. Bioprospect., 2014, **4(5)**: 257-70.
2. Aly A.H., Debbab A., Kjer J., Proksch P.: Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. Fungal Divers., 2010, **(41)**: 1-16.
3. Arnold A.E.: Understanding the diversity of foliar fungal endophytes: progress, challenges, and frontiers. Fungal Biol. Rev., 2007, **21**: 51-66.
4. Bacon C.W., White J.F.: Microbial Endophytes. Marcel Dekker Inc., New York, 2000.

5. Bezerra J.D.P., Santos M.G.S., Svedese V.M., Lima D.M.M., Fernandes M.J.S., Paiva L.M., Souza-Motta C.M.: Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (*Cactaceae*) and preliminary screening for enzyme production. *World J. Microb. Biot.*, 2012, **28(5)**: 1989.
6. Blankenship J.D., Spiering M.J., Wilkinson H.H., Fannin F.F., Bush L.P., Schardl C.L.: Production of loline alkaloids by the grass endophyte, *Neotyphodium uncinatum*, in defined media. *Phytochemistry*, 2001, **58**: 395-401.
7. Brady S.F., Singh M.P., Janso J.E., Clardy J.J.: Guanacastepene, a fungal-derived diterpene antibiotic with a new carbon skeleton. *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**: 2116-2117.
8. Dai C.C., Yu B.Y., Li X.: Screening of endophytic fungi that promote the growth of *Euphorbia pekinensis*. *Afr. J. Biot.*, 2008, **7**: 3505-3509.
9. Dai J.Q., Krohn K., Flörke U., Draeger S., Schulz B., Kiss-Szikszai A.: Metabolites from the endophytic fungus *Nodulisporium* sp. from *Juniperus cedre*. *Eur. J. Org. Chem.*, 2006: 3498-3506.
10. Daisy B.H., Strobel G.A., Castillo U., Sears J., Weaver D.K., Runyon J.B.: Naphthalene production by *Muscodora vitigenus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology*, 2002, **148**: 3737-3741.
11. De Bary A.: *Morphologie und Physiologie Pilze, Flechten, und myxomyceten*. Hofmeister's Handbook of Physiological Botany, Leipzig, 1866, Vol. 2.
12. Demain A.L.: Industrial microbiology. *Science*, 1981, **214**: 987-994.
13. Dudeja S.S., Giri R., Saini R., Suneja-Madan P., Kothe E.: Interaction of endophytic microbes with legumes. *J. Basic Microb.*, 2012, **52**: 248-260.
14. Dutta D., Puzari K. C., Gogoi R., Dutta P.: Endophytes: Exploitation as a tool in plant protection. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 2014, **57(5)**: 621-629.
15. Gamboa M.A., Laureano S., Bayman P.: Measuring diversity of endophytic fungi in leaf fragments: does size matter? *Mycopathologia*, 2002, **156**: 41-45.
16. Gao F., Dai Ch., Liu X.: Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *Afr. J. Microb. Res.*, 2010, **4(13)**: 1346-1351.
17. Gao R., Gao C., Tian X., Yu X., Di X., Xiao H., Zhang X.: Insecticidal activity of deoxypodophyllotoxin, isolated from *Juniperus sabina* L., and related lignans against larvae of *Oieris rapae* L. *Pest. Manag. Sci.*, 2004, **60(11)**: 1131-1136
18. Gimenez C., Cabrera R., Reina M. Gonzalez-Coloma A.: Fungal endophytes and their role in plant protection. *Curr. Org. Chem.*, 2007, **11**: 707-720.
19. Gunatilaka A. A. L.: Natural products from plant associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *J. Nat. Prod.*, 2006, **69**: 509-526.
20. Harper J. K., Ford E. J., Strobel G. A., Arif A., Grant D. M., Porco J., Tomer D. P., O'Neill K.: Pestacin: a 1,3-dihydro isobenzofuran from *Pestalotiopsis microspora* possessing antioxidant and antimycotic activities. *Tetrahedron*, 2003, **59**: 2471-2476.
21. Hartley S.E., Gange A.C.: Impacts of plant symbiotic fungi on insect herbivores: Mutualism in a multitrophic context. *Ann. Rev. Entomol.*, 2009, **54**: 323-342.
22. Higgins K.L., Arnold A.E., Miadlikowska J., Sarvate S.D., Lutzoni F.: Phylogenetic relationships, host affinity, and geographic structure of boreal and arctic endophytes from three major plant lineages. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2007, **42**: 543-555.
23. Jeewon R., Liew E.C.Y., Hyde K.D.: Phylogenetic evaluation of species nomenclature of *Pestalotiopsis* in relation to host association. *Fungal Diversity*, 2004, **17**: 39-55.
24. Klama J.: Współżycie endofitów bakteryjnych z roślinami (artykuł przeglądowy). *Acta Scient. Pol., Agric.*, 2004, **3(1)**: 19-28.
25. Koczwaro K., Pańka D., Lisiecki K., Juda M.: Możliwość wykorzystania endofitów w biologicznej ochronie roślin = The possibility of use of endophytes in biological plant protection. *J. Education, Health and Sport.*, 2015, **5(6)**: 333-340.

26. Kogel K.H., Franken P., Hückelhoven R.: Endophyte or parasite – what decides? *Curr. Opin. Plant. Biol.*, 2006, **9**: 358-363.
27. Kumar S., Kaushik N., Edrada-Ebel R., Ebel R., Proksch P.: Isolation, characterization, and bioactivity of endophytic fungi of *Tylophora indica*. *World J. Microb. Biot.*, 2011, **27(3)**: 571-577.
28. Lewis G.C.: Effects of biotic and abiotic stress on the growth of three genotypes of *Lolium perenne* with and without infection by the fungal endophyte *Neotyphodium lolii*. *Ann. Appl. Biol.*, 2004, **144**: 53-63.
29. Li E.W., Jiang L.H., Guo L.D., Zhang H, Che Y.S.: Pestalochlorides A-C, antifungal metabolites from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis adusta*. *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **16**: 7894-7899.
30. Li H., Haang H., Saho C., Huang H., Jiang J., Zhu X.: Cytotoxic norsesquiterpene peroxides from endophytic fungus *Talaromyces flavus* isolated from mangrove plant *Sonneralia apetala*. *J. Nat. Prod.*, 2011, **74(8)**: 1230-1235.
31. Lu H., Zou W.X., Meng J.C., Hu J., Tan R.X.: New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Sci.*, 2000, **151**: 67-73.
32. Malinowski D.P., Zuo H., Belesky D.P., Alloush G.A.: Evidence for copper binding by extracellular root exudates of tall fescue but not perennial ryegrass infected with *Neotyphodium* spp. endophytes. *Plant Soil*, 2004, **267**: 1-12.
33. Murali T.S., Suryanarayanan T.S., Geeta R.: Endophytic *Phomopsis* species: host range and implications for diversity estimates. *Can. J. Microb.*, 2006, **52**: 673-680.
34. Pandey A.K., Reddy M.S., Suryanarayanan T.S.: ITS-RFLP and ITS sequence analysis of a foliar endophytic *Phyllosticta* from different tropical trees. *Mycol. Res.*, 2003, **107**: 439-444.
35. Rodriguez R.J., White Jr. J.F., Arnold A.E., Redman R.S.: Fungal endophytes: diversity and functional roles, *New Phytologist*, 2009, **182(2)**: 314-330.
36. Rungjindamai N., Pinruan U., Choeyklin R., Hattori T., Jones E.B.G.: Molecular characterization of basidiomycetous endophytes isolated from leaves, rachis and petioles of the oil palm, *Elaeis guineensis*, in Thailand. *Fungal Divers.*, 2008, **33**: 139-161.
37. Saikkonen K., Faeth S.H., Helander M., Sullivan T.J.: Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 1998, **29**: 319-343.
38. Schulz B., Boyle C.: The endophytic continuum. *Mycol. Res.*, 2005, **109**: 661-687.
39. Schwarz M., Kopcke B., Weber R.W.S., Sterner O., Anke H.: 3-Hydroxypropionic acid as a nematocidal principle in endophytic fungi. *Phytochemistry*, 2004, **65**: 2239-2245.
40. Senthilmurugan V.G., Sekar R., Kuru S., Balamurugan S.: Phytochemical screening, enzyme and antibacterial activity analysis of endophytic fungi *Botrytis* sp. isolated from *Ficus benghalensis* (L.). *Int. J. Pharm. Res. Biol. Sci.* 2013: **2(4)**: 264-273.
41. Shahaasi A., Dubois Y., Viljoen A., Nico L., Ragama P., Niere B.: *In vitro* antagonism of endophytic *Fusarium oxysporum* isolates against the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Nematology*, 2006, **8(4)**: 627-636.
42. Sieber T.J.: Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists? *Fungal Biol. Rev.*, 2007, **21**: 75-89.
43. Silva G.H., Teles H.L., Zanardi L.M.: Cadinane sesquiterpenoids of *Phomopsis cassiae*, an endophytic fungus associated with *Cassia spectabilis* (Leguminosae). *Phytochemistry*, 2006, **67**: 1964-1969.
44. Singh S.K., Strobel G.A., Knighton B., Geary B., Sears J., Ezra D.: An endophytic *Phomopsis* sp. possessing bioactivity and fuel potential with its volatile organic compounds. *Microb. Ecol.*, 2011, **61**: 729-739.
45. Spiering M.J., Davies E., Tapper B.A., Schmid J., Lane G.A.: Simplified extraction of ergovaline and peramine for analysis of tissue distribution in endophyte-infected grass tillers. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**: 5856-5862.

46. Stone J.K., Bacon C.W., White Jr J.F.: An overview of endophytic microbes: endophytism defined in microbial endophytes, ed. by C.W. Bacon, J.F. White Jr. Marcel Dekker, Inc, New York, 2000: 3-29.
47. Strobel G.A., Miller R.V., Martinez-Miller C., Condrón M.M., Teplow D.B., Hess W.M. Cryptocandin a potent and antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. Microbiology, 1999, **145**: 1919-1926.
48. Strobel G.A.: Endophytes as sources of bioactive products. Microbes Infect., 2003, **5**: 535-544.
49. Strobel G.A., Dirkse E., Sears J., Markworth C.: Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. Microbiology, 2001, **147(11)**: 2943-50.
50. Sun X., Guo L.D., Hyde K.D.: Community composition of endophytic fungi in *Acer truncatum* and their role in decomposition. Fungal Diversity, 2011, **47**: 85-95.
51. Suryanarayanan T.S., Thirunavukkarasu N., Govindarajulu M.B., Sasse F., Jansen R., Murali T.S.: Fungal endophytes and bioprospecting. Fungal Biol. Rev., 2009, **23**: 9-19.
52. Tomsheck A.R., Strobel G.A., Booth E., Geary B., Spakowicz D., Knighton B., Floerchinger C., Sears J., Liarzi O., Ezra D.: *Hypoxyton* sp., an endophyte of *Persea indica*, producing 1,8-cineole and other bioactive volatiles with fuel potential. Microb. Ecol., 2010, **60(4)**: 903-914.
53. Webber J.F.: A natural control of Dutch elm disease. Nature, 1981, **292**: 449-451.
54. Wicklow D.T., Roth S., Deyrup S.T., Gloer J.B.: A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. Mycological Research, 2005, **109(5)**: 610-618.
55. Wilson D.: Endophyte-the evolution of a term, a clarification of its use and definition. Oikos, 1995, **73**: 274-276.
56. Worapong, J., Strobel G.A., Ford E.J., Li J.Y., Baird G., Hess W.M.: *Muscodor albus* gen. et sp. nov., an endophyte from *Cinnamomum zeylanicum*. Mycotaxon, 2001, **79**: 67-79.
57. Yan X., Sikora R.A., Zheng J.: Potential use of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Endophytic Fungi as Seed Treatment Agents against Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. J. Zhejiang Univ.- Sc. B, 2011, **12.3**: 219-225.
58. Zhang H.W., Song Y.C., Tan R.X.: Biology and chemistry of endophytes. Nat. Pro. Rep., 2006, **23**: 753-771.

Adres do korespondencji:

dr Barbara Abramczyk
Zakład Mikrobiologii Rolniczej
IUNG-PIB, Puławy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy,
tel. 81 4786 960,
e-mail: babramczyk@iung.pulawy.pl