

KOEGZYSTENCJA I KOEWOLUCJA: RÓŻNE POZIOMY WZAJEMNYCH ODDZIAŁYWAŃ I. GRZYBY WEWNĘTRZNE (ENDOITY) I ICH BIOLOGICZNE ZNACZENIE W PROCESIE KOEWOLUCJI

**Coexistence and coevolution: various levels of interactions I. Internal fungi
(endophytes) and their biological significance in coevolution**

Andrzej CHLEBICKI

Summary. In recent years important advances have occurred in the investigation of coevolution of plants and fungi. The significance, occurrence and origin of the plant internal fungi are discussed. The grass e-endophytes of *Neotyphodium* spp. are analyzed as an example of various life strategy of fungi and supposed as a new source of genetic divergence of these fungi.

Key words: fungi, coevolution, grass internal fungi (endophytes), mutualism, antagonistic symbiose.

Dr Andrzej Chlebicki, Zakład Mikologii, Instytut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk, ul. Lubicz 46, 31–512 Kraków

WSTĘP

Symbiotyczne związki między różnymi organizmami są znane już od dawna, niemniej jednak badania ostatnich lat przynoszą stale nowe informacje. Skala zjawiska symbiozy jest ogromna. W zasadzie niemal wszystkie organizmy są mniej lub bardziej złożonymi układami. Lynn Margulis [39, 60] rozwinęła koncepcję endosymbiozy zainicjowaną jeszcze przez Mereżkowskiego [41]. Ujęcie Margulis jest znane jako teoria SET (Serial Endosymbiosis Theory). Teoria SET wyjaśnia pochodzenie wewnątrzkomórkowych struktur, takich jak mitochondria, chloroplasty, czy też wici i wrzeciono kariokinetyczne, na drodze połączenia się różnych prokariotycznych organizmów, jak np. cyjanobakterie (sinice), spiroplazmy (krętki), termoplazmy i bakterie tlenowe. Budowa pozachromosomalnego DNA, znajdującego się w mitochondriach czło-

wieka i plastydach u *Euglena gracilis*, potwierdza pochodzenie tych organelli z prokariotycznych przodków [40]. Inkorporacja DNA spoza komórki nie jest zjawiskiem rzadkim. Współczesne bakterie potrafią włączać do swojego chromosomu DNA pochodzące nawet z innych, martwych bakterii. Najnowsze badania wykazują, że znaczna część DNA z organelli komórkowych jest przenoszona do jądra [62].

UKŁAD ROŚLINA-GRZYB

Ostatnio odkrywamy coraz bardziej złożone układy organizmów. Najczęściej mają one znacznie większe możliwości adaptacyjne. Mniej więcej 500 (505–440) milionów lat temu rozpoczął się proces kolonizacji lądu przez rośliny. Ówczesne rośliny żyły w oceanach i pokrojowo przypominały współczesne wątrobowce [25]. Pokroje kilku takich roślin narysowała Aleksan-

dra Hołda [43]. Rośliny te nie miały korzeni i w związku z tym nie mogły skutecznie zasiedlić ładu. Kiedy powstały rośliny kwiatowe? Ostatnie odkrycia kopalnych roślin, jak np. *Archaeofructus liaoningensis* (Archaemagnoliidae) w północnych Chinach [67], świadczą o obecności kwiatów już w górnej jurze (około 142 mln lat temu), choć niektórzy paleobotanicy uważają, że przodków roślin kwiatowych należy szukać wśród kopalnych *Liliaceae*, podobnych do współcześnie żyjących gatunków z rodzaju *Amborella* [13].

Bartnicki-Garcia [4] uważa, że grzyby mogły powstać dopiero wtedy, gdy komórki pierwotnych organizmów potrafiły się wydłużać, innymi słowy, charakteryzowały się apikalnym wzrostem. Taki typ wzrostu okazał się bardzo ważnym „wynalazkiem” natury. Taylor [68] zakłada, że grzyby mogły powstać w prekambrze. Z ordowiku znana jest już kopalna gleba i fragmenty grzybów [25, 70].

Pirożyński i Malloch [57] wysunęli hipotezę, że symbioza pomiędzy grzybami i wodnymi roślinami umożliwiła kolonizację środowiska lądowego. Symbiotyczne grzyby, przypominające współczesne grzyby z rodzaju *Glomus* [56], tworzyły wówczas VAM (vesicular-arbuscular mycorrhiza) mikoryzę z roślinami zaliczanymi do ryniofitów. Choć wspomniani autorzy przypuszczają także, że rośliny te początkowo nie były symbiontami, lecz saprotrofami lub nawet pasożytami grzybów. Attsat [3] sądził, że rośliny lądowe powstały dzięki połączeniu się dawnych Chromista, tzn. wodnych glonów podobnych do współczesnych Coleochaete i pseudogrzybów bliskich współczesnym Oomycota. Równie interesująca jest teoria powstania roślin kwiatowych [55]. Przyjmuje się, że nagła eksplozja biologiczna roślin okrytozalążkowych w kredzie ma swoje uzasadnienie w długotrwałym procesie symbiozy. Zdaniem Pirożyńskiego [55] decydujące znaczenie miała koegzystencja roślin, pasożytniczych owadów i grzybów.

Układ roślina-grzyb jest bodaj najczęściej opisywanym układem symbiotycznym. Najstarszy kopalny workowiec, do złudzenia przypominający współczesnego przedstawiciela Pyrenomycetes (obecnie Sordariomycetes), zo-

stał znaleziony w Szkocji, na lądowej roślinie należącej do rodzaju *Asteroxylon*, pochodzącej z dolnego dewonu, tj. około 400 mln lat temu [69]. Tym samym okazało się, że workowce należą do bardzo starej grupy grzybów. Śląski botanik Goeppert [18] opisał grzyba *Excipulites Neesii* Goepp. na karbońskiej paproci. Oba znaleziska są najstarszymi przykładami kopalnych grzybów uczestniczących w układzie roślina-grzyb, tak jak i liczące sobie co najmniej 400 mln lat zjawisko mikoryzy.

Trudno dzisiaj stwierdzić w jaki sposób doszło do powstania pasożytów. Evans [17] uważa, że silna konkurencja pomiędzy saprotrofami doprowadziła do powstania symbiozy antagonisticznej (pasożytnictwa). Powszechnie sądzi się jednak, że dopiero z pasożytów wyłoniły się saprotrofy. W chwili obecnej nie ma przekonujących dowodów na to, która z tych hipotez jest najbardziej prawdopodobna. Współczesne saprotrofy fakultatywne są w pewnych warunkach zdolne do infekowania osłabionych roślin. Saprotrofy takie są najczęściej polifagami, inaczej mówiąc, mają bardzo szerokie spektrum podłoża. Zapewne można sobie wyobrazić, że wczesne relacje między roślinami i grzybami były raczej dość luźne, grzyby rozkładały martwą materię organiczną różnego pochodzenia. Przejście od saprotrofizmu do pasożytnictwa wydaje się być bardzo prawdopodobne. W tym kontekście hipoteza, że pasożytnictwo jest wynikiem konkurencji między saprotrofami zasługuje na uwagę. Grzyb i roślina w tej początkowej fazie współżycia mogły oddziaływać na siebie i stopniowo dostosować swoje strategie życiowe. Natomiast Pirożyński i Dalpe [56] przypuszczają, że to właśnie wodne rośliny we wczesnej fazie kolonizacji ładu pasożytowały na grzybach.

Z pewnością, w odległych epokach geologicznych, gdy jeszcze nie było gleby, a życie mogło istnieć jedynie w środowisku wodnym, kontakty takie mogły zaistnieć właśnie między wodnymi organizmami. Obecnie grzyby żyjące w wodzie to głównie Chytridiomycota, Ascomycota, grzyby mitosporowe (Hyphomycetes) i pseudogrzyby Oomycota. Pirożyński uważał, że komponent grzybowy mógł być podobny do

współczesnych Glomales (Zygomycota). Niemniej jednak, bardzo starą grupą grzybów są grzyby workowe [69], choć ich rozkwit z pewnością nastąpił dopiero po skolonizowaniu ładu przez rośliny. Nie wiemy jeszcze, która grupa grzybów nawiązała pierwsze kontakty z roślinami.

Obecnie obserwowany stan zaawansowania układów typu roślina-grzyb jest bardzo różny. Przykładem najbardziej zaawansowanej symbiozy nieantagonistycznej pomiędzy grzybami i roślinami są grzyby lichenizujące (porosty). W kilku innych przypadkach związki te są również bardzo zaawansowane, jak np. symbioza grzybów z trawami i storczykami. Powszechnie spotykanym zjawiskiem jest mikoryza. Kamieński [24], który pierwszy zwrócił uwagę na zjawisko mikoryzy u korzeniówki *Monotropa hypopitys* i buka *Fagus silvatica*, napisał: „grzyb, o którym mowa, nie odbiera pokarmu Korzeniówce i nie jest jej szkodliwym, ale korzenie jej uważa dla siebie jako dogodną podstawę, [...]. Mamy więc tu dwa organizmy roślinne. Korzeniówkę i grzyb, bliżej jednak nieoznaczony, które żyjąc wspólnie, nawzajem sobie pomagają”. Zadziwia nas dzisiaj dalekowzroczność Kamieńskiego, pisze bowiem, że „dwie formy symbiozy [ze społenie antagonistyczne i mutualistyczne] są tylko krańcowymi i pomiędzy nimi istnieje cały szereg form pośrednich, tak jak to możemy widzieć chociażby pomiędzy różnego rodzaju pasożytami”. Jest to zgodne z współczesnymi poglądami, w których posługujemy się terminami symbioza nieantagonistyczna i symbioza antagonistyczna. Zdecydowana większość prac związana jest z opisem symbiozy antagonistycznej pomiędzy roślinami i grzybami. Są to głównie prace fitopatologów i botaników, poświęcone pasożytom i saprotrofom występującym na roślinach naczyniowych [10, 26, 36, 37, 38, 46, 59], rzadziej pasożytom glonów [7, 22, 23] i mszaków [14, 15], a także grzybom pasożytującym na plechach porostów [20, 42]. Znałe są także mutualistyczne związki grzybów i glonów, np. strzępki grzyba *Mycosphaerella ascomyilli* rosnące w przestrzeniach międzykomórkowych brunatnicy *Ascomyllum nodosum*, nie powodujące zmian chorobowych rośliny gospodarza.

NIEMIKORYZOWE GRZYBY WEWNĘTRZNE (ENDOFITY) ROŚLIN NACZYNIOWYCH

Specyficznym typem układu roślina-grzyb jest obecność grzybów wewnętrznych w tkankach roślin. W ostatnich latach badania nad grzybami wewnętrznymi rozwijają się bardzo dynamicznie. Ten temat badań został podjęty w wielu laboratoriach. Grzyby wewnętrzne były izolowane z liści roślin nagonasiennych [8, 30], wiecznie zielonych krzewów [49, 50, 54], paproci [53], traw i innych roślin zielnych [6, 32, 44], liści drzew szerokolistnych [2, 5, 27, 51, 63], ksylemu i kory drzew [29, 52]. Znaczenie grzybów wewnętrznych jest jeszcze niedostatecznie zbadane. Wiadomo, że takie grzyby mogą produkować toksyczne substancje [58], w znacznym stopniu uniemożliwiające wnikanie pasożytów do tkanek gospodarza [8, 9], choć zapewne obecność wewnętrznych grzybów nie jest dla rośliny obojętna. *Neotyphodium typhinum* wyizolowane z mannicy *Puccinellia distans* ograniczało w znacznym stopniu wzrost kolonii pasożytniczego gatunku *Colletotrichum capsici*. Dodanie roztworu NaCl znacznie zwiększyło inhibicję wzrostu kolonii *C. capsici*. Oznacza to, że halofit (*Puccinellia distans*) zainfekowany *Neotyphodium* będzie mniej dostępny dla innych pasożytów w słonym środowisku [9]. Grzyby wewnętrzne mogą także produkować substancje wzrostowe, które wzmagają kiełkowanie nasion [34]. Są to także grzyby, które starają się przetrwać niekorzystny okres zimy w tkankach roślin, zwłaszcza w liściach Ericaceae, Polygonaceae, Thymaceae i Coniferales [47]. Widler [73] odnotował w liściach europejskiego gatunku *Arctostaphylos uva-ursi* 157 gatunków grzybów wewnętrznych, podczas gdy Arnold i in. [2] wyizolowali aż 418 gatunków grzybów z liści *Heisteria concinna* (Oleaceae) i *Ouratea lucens* (Ochnaceae), rosnących w tropikalnych lasach Panamy.

Organizmy symbiotyczne są poddane dwójakiego rodzaju selekcji. U endosymbiontów przeważa bardzo niski stopień zróżnicowania, wynikający ze zmniejszonej wymiany genetycznej między tymi organizmami, natomiast u ektosymbiontów, przeciwnie, stymulowana jest zna-

czna różnorodność wynikająca z szybkiego tempa wymiany genetycznej między ektosymbiontami [33]. I tak np. znane są zaledwie trzy gatunki endosymbiotycznych grzybów, które tworzą mikoryzę aż u 2000 gatunków wrzosowatych. Z kolei 4 gatunki bakterii z rodzaju *Rhizobium* tworzą związki symbiotyczne z 17 500 gatunkami roślin naczyniowych. Endosymbionty, w tym również grzyby wewnętrzne mają często uproszczony cykl życiowy. Tkanki gospodarza stanowią dla nich barierę przed stymulującym wpływem zewnętrznego środowiska.

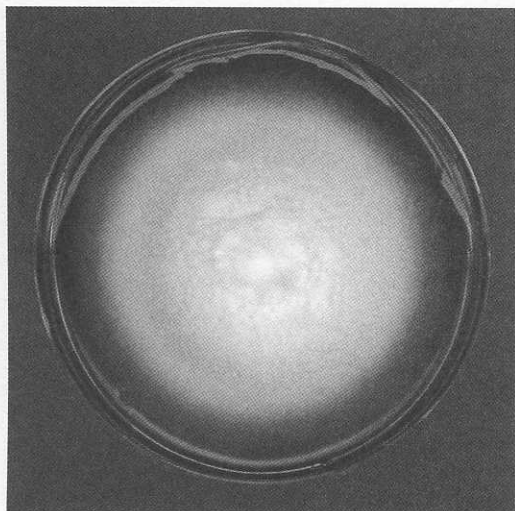
Bardzo interesującą grupą są grzyby wewnętrzne traw należące do rodziny Clavicipitaceae. Vogl [72] opisał grzyby wewnętrzne nasion u *Lolium temulentum* już w 1898 r. Grzyby związane z trawami mają zróżnicowane cykle życiowe. Niektóre z nich, zidentyfikowane jako konidialne stadia (mitosporowe stadia) zaliczane do rodzaju *Neotyphodium*, nie potrafią już wytwarzać stadium doskonałego (teleomorfy). Takie aseksualne grzyby wewnętrzne są zbudowane z długich strzępek pozbawionych haustoriów [64]. Są one bardzo podobne do anamorf *Epichloë* i nazywamy je mutualistycznymi grzybami wewnętrznymi (e-endofitami) [45]. Wspomniane grzyby wewnętrzne mają niewątpliwie ekonomiczne znaczenie. Produkują alkaloidy (ergot) i trujące metabolity [11, 56], które są toksyczne dla roślinożernych ssaków i owadów oraz ludzi [16].

Grzyby wewnętrzne są nadal niedostatecznie zbadane. Ich obecność w tkankach roślin jak i zachowanie się nasuwa wiele pytań. Przypuszcza się, że grzyby wewnętrzne mogą pochodzić bądź to od pasożytniczych gatunków, bądź też od grzybów epifitycznych lub grzybów mikoryzowych, które przemieściły się z korzeni w nadziemne organa roślin. W jaki sposób mogło dojść do kontaktu obu organizmów? Jak wiadomo, saprotrofy fakultatywne, wykorzystujące martwe tkanki gospodarza, są zdolne do pasożytowania na osłabionym gospodarzu. Współczesne grzyby fylosfery, głównie drożdżopodobne epibionty, odżywiają się substancjami wydzielanymi przez liście. Być może, dawniej liście nie produkowały takich substancji, natomiast istniały zapewne analogiczne do szparek struktury,

którymi mogły się przedostać do wnętrza liścia strzępki grzyba. Teoretycznie, grzyby mogły dostać się do wnętrza roślin bądź poprzez liście, bądź przez korzenie. Jednak korzenie pojawiły się znacznie później, stąd należy przypuszczać, że pierwszy kontakt odbył się raczej poprzez liście. Właśnie grzyby wewnętrzne (pasożyty?) liści, to prawdopodobnie efekt takiego pierwszego kontaktu grzybów z roślinami. Czy taki układ od razu musiał być pasożytniczy lub mutualistyczny? Prawdopodobnie roślina była pozbawiona bariery fizjologicznej lub choćby mechanicznej, która dopiero na skutek inwazji grzyba została przez roślinę wytworzona. Zapewne nieco później powstały u grzybów przystosowania (anatomiczne i fizjologiczne), które z jednej strony umożliwiły im pasożytowanie – coraz bardziej wyspecjalizowane, a z drugiej – życie w mikoryzie i endosymbiozie w liściach. Być może taki podział jest zbyt statyczny. Prawdopodobnie status endosymbionta zmieniał się w czasie. Nawiązywanie kontaktu odbywało się z pewnością wielokrotnie w przeszłości i odbywa się obecnie w miarę powstawania nowych gatunków, rodzajów i rodzin, zarówno roślin gospodarzy jak i grzybów.

Możliwości adaptacyjne grzybów są bardzo szerokie; niektóre grzyby (Clavicipitaceae) można opisać jako epibionty-saprotrofy-pasożyty. W obrębie podkładek grzybów *Hyperdermium bertonii* i *H. pulvinatum* [66] znajdowano fragmenty ciała czerwców (Homoptera, *Coccidae*). Sztylecik skonsumowanego czerwca sięgający floemu był później wykorzystywany przez epibiontycznego grzyba jako dogodny środek transportu węglowodanów z rośliny. Przejście z infekcji owada i nekrotrofii do biotrofii na roślinie jest wyjątkowo rzadko spotykanym sposobem odżywiania u Clavicipitaceae i innych grzybów. Świadczy to o umiejętności korzystania przez grzyby z różnych źródeł pokarmu.

Najbardziej zaawansowaną fazę pasożytnictwa mamy wtedy, gdy grzyb i roślina dopasowały się do siebie i dzięki temu powstaje wspomniany poprzednio wyspecjalizowany pasożyt (monofag) ograniczony do jednego gatunku rośliny żywicielskiej. Później, w miarę różnicowania się roślin gospodarzy, również pasożyt może



Ryc. 1. Kolonia grzyba *Neotyphodium typhinum* (anamorfa *Epichloë typhina*) wyizolowanego z pochwy *Dactylis glomerata*.

Fig. 1. Colony of *Neotyphodium typhinum* (anamorph of *Epichloë typhina*) isolated from sheath of *Dactylis glomerata*.

ulec zjawisku specjacji i wtedy specjacja gospodarza niejako wymusza specjację grzyba. Rodzaj *Epichloë* spotykany jest na wielu spokrewnionych taksonach roślin, które kiedyś miały wspólnego przodka. Na tym zjawisku opiera się wnioskowanie o pokrewieństwie taksonów gospodarzy. Im bliższe sobie są gatunki pasożytów tym bardziej spokrewnione powinny być gatunki gospodarzy, na których te pasożyty występują. W przyrodzie spotykamy się z różnymi fazami kontaktu grzyb-roślina. Współcześnie też są notowane kontakty grzyba z nowym rodzajem gospodarza. Są to sporadyczne doniesienia o występowaniu bardzo wyspecjalizowanych grzybów na innych „nieprawdopodobnych” żywicielach, które zazwyczaj są traktowane jako pomyłki.

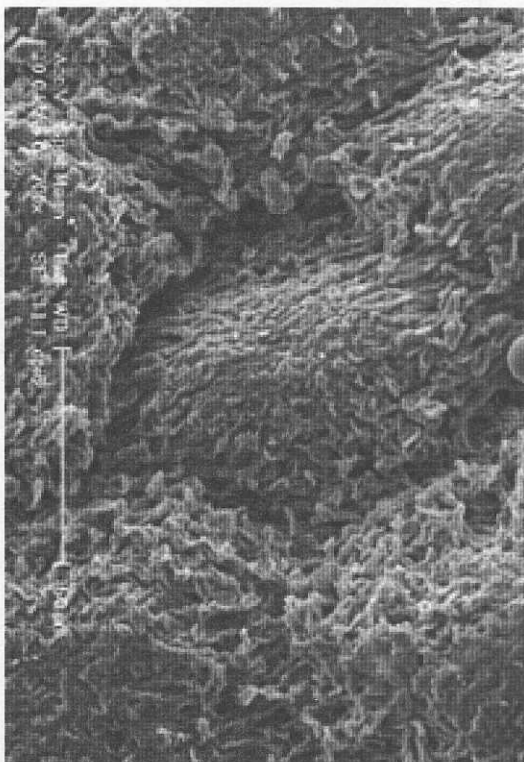
Zawansowane układy symbiotyczne spotykamy u traw. Znaczna część grzybów występujących w tkankach trawach nie została dotychczas zidentyfikowana. Obecnie znane są trzy większe grupy grzybów wewnętrznych:

1. e-endofity: a) Pasożytnicze anamorfy z rodzaju *Neotyphodium*, tworzące konidia w kulturach na pożywkach (ryc. 1), przechodzące w

workowe stadium płciowe *Epichloë* (ryc. 2). Grzyb rozprzestrzenia się horyzontalnie za pośrednictwem askospor i konidiów (ang. horizontal transmission); b) Mutualistyczne, aseksualne anamorfy z rodzaju *Neotyphodium*, nie tworzące konidiów w kulturach, są rozprzestrzeniane pionowo (ryc. 3), jedynie za pośrednictwem nasion lub innych propaguli (ang. vertical transmission).

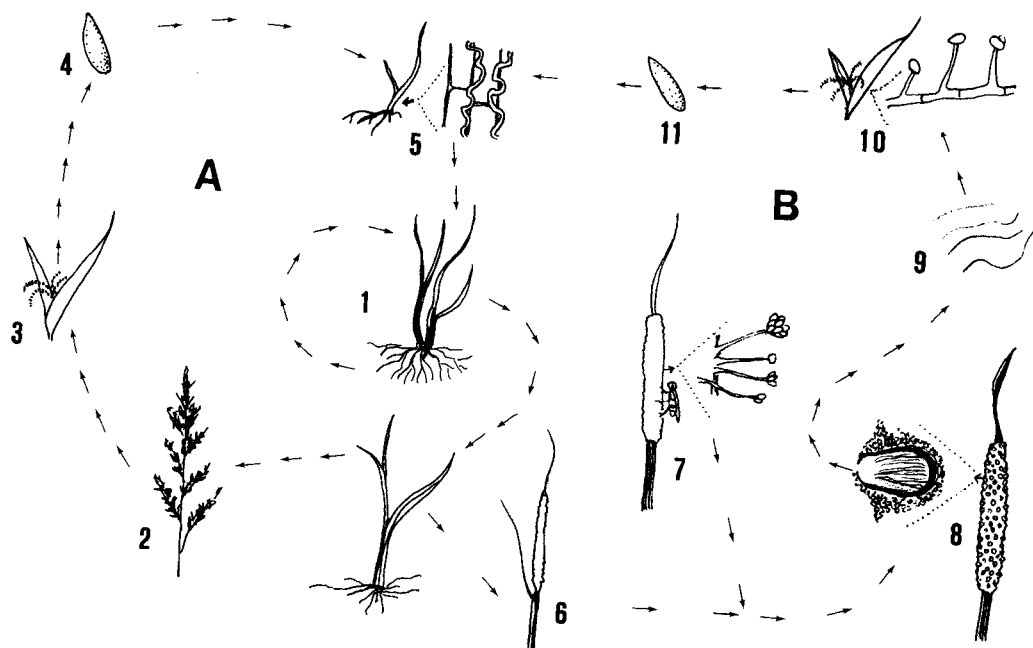
2. p-endofity: Grzyby podobne do anamorf z rodzaju *Phialophora*, często znajdowane w tkankach traw z rodzaju *Festuca* [1] oraz grzyby przypominające anamorfy z rodzaju *Gliocladium* [1]. P-endofity nie wykazują antagonicznych zachowań w stosunku do e-endofitów.

3. a-endofity: Wstępnie zidentyfikowano je jako należące do rodzaju *Acremonium* [48]. Jednym z takich a-endofitów jest *Acremonium chi-*



Ryc. 2. Otocznie *Epichloë typhina* rosnącej na mannicy *Puccinellia distans*.

Fig. 2. Perithecia of *Epichloë typhina* growing on *Puccinellia distans*.



Ryc. 3. Cykle życiowe *Epichloë* (*E. festucae*): A – bezpłciowy (pionowe rozprzestrzenianie się): 1 – klonalne namnażanie się symbiotum, 2 – kwiat z endofitem w merystemie, 3 – endofit w komórce jajowej, 4 – endofit w zarodku, 5 – endofit w liścieniu; B – płciowy (horyzontalne rozprzestrzenianie się): 6 – podkładka hamująca rozwój kwiatostanu, 7 – muchówka przenosząca spermację przeciwnego typu, 8 – dojrzała podkładka na pochwie liścia flagowego, 9 – zarodniki workowe, 10 – kielkujące zarodniki w kwiecie, 11 – infekcja komórki jajowej (wg [12], zmienione).

Fig. 3. Generalized cycles of *Epichloë* (*E. festucae*). A – asexual cycle (vertical transmission): 1 – clonal propagation of symbiotum, 2 – inflorescence with endophyte in floral meristems, 3 – endophyte in ovule, 4 – endophyte in seed embryo, 5 – endophyte in seedling. B – sexual cycle (horizontal transmission): 6 – fungal stroma surrounds inflorescence and arrests its development, 7 – fly transfers spermatia to stroma of opposite mating type, 8 – mature stroma on flag-leaf sheath, 9 – ascospores (meiotic spores), 10 – germinating ascospores on grass floret, 11 – infection of host ovule (after [12], modified).

lense opisane przez Morgan-Jones i in. [45]. A-endofity wyraźnie wyróżniają się spośród innych grzybów wewnętrznych. Izolowane szczepy charakteryzują się bardzo szybkim wzrostem na pożywkach PDA. Rośliny zawierające a-endofity (głównie jednoroczne gatunki *Lolium* i *Festuca paniculata*) nie wykazują żadnych efektów antagonistycznych w stosunku do grzybów.

Mutualistyczne grzyby wewnętrzne (e-endofity) są znajdowane w bardziej zaawansowanych układach symbiotycznych, gdzie mogą występować razem z pasożytniczymi grzybami wewnętrznymi. W takiej sytuacji obok cyklu płciowego sprzężonego z cyklem bezpłciowym występuje także niezależny i uproszczony cykl bezpłciowy (ryc. 3). Pomędzy tymi dwoma

sposobami rozprzestrzeniania się grzyba utrzymuje się równowaga [12]. Mutualistyczny grzyb wewnętrzny często jest hybrydogenne pochodzenia. Równocześnie można przypuszczać, że jedynie pasożytnicze grzyby wewnętrzne (anamorfy *Epichloë*), zdolne do przejścia w fazę generatywną, mogą opanowywać nowe rośliny żywicielskie. Potwierdzają to najnowsze badania nad *Puccinellia distans*, gdzie odnotowano występowanie anamorfy *Epichloë typhina* [35]. Grzyb *E. typhina* jest ograniczony w swoim występowaniu głównie do *Dactylis glomerata* s. l., rzadziej *Lolium perenne* i *Poa pratensis*. W tym kontekście należy uznać *P. distans* za nowy gatunek gospodarza dla *E. typhina* [10].

Craven i in. [12] uważają, że w cyklach ży-

ciowych wirulentnych szczepów *E. typhina* na nowych żywicielach nie występują mutualistyczne grzyby wewnętrzne, a jedynie pasożytnicze grzyby wewnętrzne, a tym samym presja pasożyta na roślinę gospodarza staje się znacznie silniejsza. Podobnie *E. baconii* i *E. glyceriae* są pasożytami, które szybko się rozprzestrzeniają. One również nie tworzą mutualistycznych grzybów wewnętrznych przenoszonych na drodze pionowego rozprzestrzeniania.

Polifiletyczne pochodzenie mutualistycznych grzybów wewnętrznych z rodzaju *Neotyphodium* zostało niedawno potwierdzone [48]. Do hybrydyzacji może dojść na drodze anastomoz pomiędzy sąsiednimi strzępkami różnych grzybów wewnętrznych. Takie hybrydy mogą mieć znaczenie zarówno dla grzyba, jak i dla rośliny. Mutualistyczny grzyb wewnętrzny, który utracił możliwość namnażania się za pomocą konidiów, jest skazany na życie razem z gospodarzem. Jest produktem długotrwałej koewolucji, w pewnym sensie czasowo „unieszkodliwionym pasożytem”. Czy mutualistyczny grzyb wewnętrzny może wzbogacić pulę genową zwykłej pasożytniczej anamorfy? Innymi słowy, czy może połączyć się ze zwykłą anamorfą i tą drogą przekazać własną informację genetyczną? Tego być może należy się spodziewać. Roślina może być zarówno nośnikiem pasożytniczych jak i mutualistycznych grzybów wewnętrznych (e-endofitów, p-endofitów), jak też i innych niewyspecjalizowanych grzybów. Powszechność występowania grzybów wewnętrznych i plazmidów w tkankach roślin może stwarzać możliwości oddziaływania poszczególnych endosymbiontów na siebie. Jeżeli w liściach znajdowane są nie dziesiątki, ale już setki gatunków grzybów wewnętrznych, obrazuje to skalę zjawiska. Z drugiej strony np. wiadomo, że mutualistyczne grzyby wewnętrzne i pasożytnicze anamorfy występują oddzielnie na różnych źdźbłach tej samej rośliny. Istnieje zatem zjawisko antagonizmu pomiędzy poszczególnymi gatunkami. Są to jeszcze bardzo słabo zbadane relacje. Analiza genomów polifiletycznych grzybów wewnętrznych (e-endofitów) jest również wykorzystywana w ustalaniu pokrewieństw pomiędzy różnymi rodzajami i gatunkami traw.

Mutualistyczny grzyb wewnętrzny *Neotyphodium coenophialum*, występujący pospolicie na *Lolium arundinaceum* zawiera trzy kopie genu – tubuliny (tub2). Analiza poszczególnych kopii genu wykazała, że każda z nich pochodzi od innego gatunku *Epichloë*: *E. festucae*, *E. typhina* i *E. baconii* [71]. A więc dzięki badaniom genomu grzybów wewnętrznych przechodzących jedynie przez uproszczony cykl bezpłciowy możliwe było przeprowadzenie badań filogenetycznych.

Czy ograniczenie inwazji grzyba do stadium grzyba wewnętrznego jest efektem samoobrony ze strony roślin, czy też jest to dogodne stadium dla grzyba, zdolnego do szybkiego zaatakowania rośliny w chwilach jej słabości? Grzyby wewnętrzne, które nie utraciły możliwości produkowania konidiów lub też przechodzenia w stadium płciowe, są zdolne do przejścia w fazę pasożytniczą. Grzyby wewnętrzne gałązek, jak np. *Cenangium ferruginosum*, mogą przez długi czas zachowywać się neutralnie i dopiero po zaistnieniu korzystnych warunków, tzn. wówczas gdy gospodarz jest osłabiony, stają się agresywnymi pasożytami [21]. Jednym z takich czynników, wyzwalającym patogeniczną reakcję, mogą być duże ubytki tkanek rośliny spowodowane przez żerowanie owadów lub też atak innego gatunku pasożytniczego grzyba. Kowalski [28] stwierdził, że czynnikiem wywołującym atak grzyba *Cenangium ferruginosum* jest żerowanie owada *Thecodiplosis brachyntera*. Z kolei Gremmen [19] zauważył, że gałązki zaatakowane uprzednio przez pasożytniczy grzyb *Gremmeniella abietina* były potem kolonizowane przez *Cenangium ferruginosum*.

Obecność endosymbiontów, pasożytów, plazmidów i wirusów w obrębie rośliny można traktować jako ważne zjawisko przyrodnicze. Tkanki roślin i innych Eucaryota stają się miejscem kontaktu różnych potencjalnych partnerów. W takich warunkach może dojść do wzbogacenia DNA poszczególnych partnerów o nowe sekwencje na drodze hybrydyzacji. Mutualistyczne aseksualne grzyby wewnętrzne mogą być diploidami, poliploidami lub aneuploidami, nie dadzą się klasyfikować jako biologiczne gatunki ze względu na brak cyklu płciowego,

natomiast przy użyciu technik molekularnych możliwa jest ich klasyfikacja filogenetyczna [61, 31].

Czy mutualistyczne grzyby wewnętrzne są zjawiskiem przypadkowym, czy też stwarzają możliwości warunkujące powstanie bardziej zintegrowanych superorganizmów? Można sądzić, że kierunki wyznaczone przez procesy koewolucji są bardzo różne. Współczesne organizmy nie są tworem będącym skutkiem replikacji monofiletycznego DNA, lecz złożonymi strukturami zawierającymi informację genetyczną pochodzącą z wielu źródeł, która następnie była inkorporowana w trakcie długiego okresu ewolucji [65].

Czy grzyby wewnętrzne staną się w przyszłości kolejnymi organellami, trudno dzisiaj wyrokować. Niemniej jednak jesteśmy świadkami procesu, który w przyszłości może doprowadzić do nieoczekiwanych efektów.

PODZIĘKOWANIA. Dziękuję Prof. dr. T. Majewskiemu za wnikliwe uwagi, które w znacznym stopniu wpłynęły na ostateczny kształt artykułu. Dziękuję mojej żonie za korektę wielu wersji artykułu. Praca została wykonana w ramach grantu KBN nr 6 P04F 080 21.

LITERATURA

- [1] AN Z. Q., SIEGEL M. R., HOLLIN W., TSAI H. F., SCHMIDT D., SCHARDL C. L. 1993. Relationships among non-*Acremonium* sp. fungal endophytes in five grass species. *Appl. Environ. Microb.* **59**: 1540–1547.
- [2] ARNOLD A. E., MAYNARD Z., GILBERT G. S., COLEY P. D., KURSOR T. A. 2000. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology Letters* **3**(4): 267–274.
- [3] ATSATT P. R. 1988. Are vascular plants „inside out” lichens? *Ecology* **69**: 17–23.
- [4] BARTNICKI-GARCIA S. 1987. The cell wall: a crucial structure in fungal evolution. W: A. D. M. RAYNER, C. M. BRASIER, D. MOORE (red.), *Evolutionary biology of the fungi*. Cambridge University Press, Cambridge, s. 389–403.
- [5] BREEZE E. M., DIX N. J. 1981. Seasonal analysis of the fungal community on *Acer platanoides* leaves. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **77**: 321–328.
- [6] CABRAL D., STONE J. K., CAROLL G. C. 1993. The internal mycobiota of *Juncus* spp.: microscopic and cultural observations of infection patterns. *Mycol. Res.* **97**: 367–376.
- [7] CANTER-LUND H., LUND J. W. G. 1995. Freshwater Algae. Their microscopic world explorer. Biopress Limited, Bristol.
- [8] CARROLL F. E., MÜLLER E., SUTTON B. C. 1977. Preliminary studies on the incidence of needle endophytes in some European conifers. *Sydowia* **29**: 87–103.
- [9] CHLEBICKI A. (w druku) Graminicolous fungi from Poland 2. Interactions of internal fungi isolated from a halophyte, *Puccinellia distans*, and their salt tolerance. *Polish. Bot. J.* **47**.
- [10] CHLEBICKI A., LEMBICZ M. 2001. Graminicolous fungi from Poland. I. Fungi on halophyte *Puccinellia distans*. *Acta Mycol.* **36**: 173–190.
- [11] CLAY K. 1988. Clavicipitaceous fungal endophytes of grasses: coevolution and the change from parasitism to mutualism. W: K. A. PIROZYNSKI, D. L. HAWKSWORTH (red.), *Coevolution of fungi with plants and animals*. Academic Press, London-Toronto, s. 79–105.
- [12] CRAVEN K. D., HSIAU P. T. W., LEUCHTMANN A., HOLLIN W., SCHARDL C. L. 2001. Multigene phylogeny of *Epichloë* species, fungal symbionts of grasses. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **88**: 14–34.
- [13] CROMIE W. 1999. Oldest known flowering plants identified by genes. www.hno.harvard.edu/gazette/1999/12.16/angiosperms.html
- [14] DÖBBELER P. 1980. *Epibryon endocarpum* sp. nov. (Dothideales), ein hepaticoler Ascomycet mit intrazellulären Fruchtkörpern. *Z. Mykol.* **46**: 209–216.
- [15] DÖBBELER P. 1987. Ascomycetes growing on *Polytrichum sexangulare*. W: G. A. LAURSEN, J. F. AMMIRATI, S. A. REDHEAD (red.), *Arctic and Alpine Mycology* **2**. *Environ. Sci. Res.* **34**: 87–107.
- [16] ENGEL G. 1988. Ergotyzm i sztuka średniowiecza. *Wszelchświat* **89**: 157–159.
- [17] EVANS H. C. 1988. Coevolution of entomogenous fungi and their insect hosts. W: K. A. PIROZYNSKI, D. L. HAWKSWORTH (red.), *Coevolution of fungi with plants and animals*. Academic Press, London-Toronto, s. 149–171.
- [18] GOEPPERT H. R. 1844. Uebersicht der fossilen Flora Schlesiens. W: F. WIMMER (red.), *Flora von Schlesien*. Verl. F. Hirt., Breslau, s. 157–225.
- [19] GREMMEN J. 1959. A contribution to the mycoflora of pine forests in the Netherlands. *Nova Hedwigia* **1**: 251–284.
- [20] HAWKSWORTH D. L. 1983. A key to lichen-forming, parasitic, parasymbiotic and saprophytic fungi occurring on lichens in the British Isles. *The Lichenologist* **15**: 1–44.
- [21] JURC D., JURC M., SIEBER T. N. & BOJOVIĆ S. 2000. Endophytic *Cenangium ferruginosum* (Ascomycota) as a reservoir for an epidemic of *Cenangium* dieback in austrian pine. *Phyton* **40**(4): 103–108.
- [22] KADEUBOWSKA J. Z. 1998. Rare species of fungi parasitizing on algae. I. Parasites of *Spirogyra* and *Mougeotia*. *Acta Mycol.* **33**(2): 247–254.
- [23] KADEUBOWSKA J. Z. 1999. Rare species of fungi parasitizing on algae. II. Parasites of *Desmidiaceae*. *Acta Mycol.* **34**: 51–54.
- [24] KAMIENSKI F. 1882. Narzędzia odżywcze Korzeniówki. *Pamiętn. Akad. Umiejętn. w Krakowie, Wydż. Mat.-Przyr.* **7**: 85–100.
- [25] KENDRICK P., CRANE R. 1997. The origin and early evolution of plants on land. *Nature* **389**: 33–39.

- [26] KOCHMAN J. 1973. Fitopatologia. PWRiL, Warszawa.
- [27] KOWALSKI T. 1996. Grzyby endofityczne III. Możliwość ograniczenia populacji *Mikiola fagi* (Hartig) przez *Apiognomonia errabunda* (Rab. ex Desm.) Hohn. Choroby Roślin a Środowisko. PTF, materiały z sympozjum naukowego, Poznań 27–28. 06. 1996, Poznań: 83–90.
- [28] KOWALSKI T. 1998. A study on *Cenangium* shoot die-back of *Pinus sylvestris* L. in Poland. W: G. HARTMANN, C. TOMECEK, T. L. CECH (red.), *Disease/environment interactions in forest decline. Proceedings of a workshop of the IUFRO 7. 02. 06 working party*, Vienna, March 16–21, Federal Forest Research Centre: 73–81.
- [29] KOWALSKI T., GAJOSEK M. 1998. Endophytic mycobiota in stems and branches of *Betula pendula* to a different degree affected by air pollution. *Österreichische Z. Pilzkunde* 7: 13–24.
- [30] KOWALSKI T., POŹDZIK P. 1993. Grzyby endofityczne w żywych igłach *Pinus sylvestris* L. *Acta Agrar. Silvicultura Ser. Leśn.* 31: 17–30.
- [31] KULDAU G. A., TSAI H. F., SCHARDL C. L. 1999. Genome sizes of *Epichloë* species and anamorphic hybrids. *Mycologia* 91: 776–782.
- [32] LATCH G. C. M. 1998. Grass endophytes as a model. *Sydowia* 50: 213–228.
- [33] LAW R., LEWIS D. H. 1983. Biotic environments and the maintenance of sex – some evidence from mutualistic symbioses. *Biol. J. Linn. Soc.* 20: 249–276.
- [34] LUGINBUHL M., MÜLLER E. 1980. Endophytische Pilze in den oberirdischen Organen von vier gemeinsam an gleichen Standorten wachsenden Pflanzen. *Sydowia* 33: 185–209.
- [35] ŁAPA A., JARMOŁOWSKI A., LEMBICZ M. 2000. Zastosowanie technik molekularnych do identyfikacji stadium płciowego *Epichloë typhina* w populacjach *Puccinellia distans*. Taksonomia, kariologia i rozmieszczenie traw w Polsce. IV Ogólnopolskie Spotkanie Naukowe 16–17 listopada 2000.
- [36] MAJEWSKI T. 1969. O występowaniu w Polsce niektórych grzybów rdzawnikowych (Uredinales). The occurrence of some Uredinales in Poland. *Acta Mycol.* 5: 17–22.
- [37] MAJEWSKI T. 1977. Podstawczaki (Basidiomycetes), Rdzawnikowate (Uredinales). 1. W: J. KOCHMAN, A. SKIRGIELLO (red.), *Flora Polska. Grzyby (Mycota)* 9. ss. 394. PWN, Warszawa-Kraków.
- [38] MAŃKA K. 1992. Fitopatologia leśna. PWRiL, Warszawa.
- [39] MARGULIS L. 2000. Symbiotyczna planeta. CiS, Warszawa.
- [40] MATTHEWS H. R., FREEDLAND R. A., MIESFELD R. L. 2000. Biochemia i biologia molekularna. Prószyński i S-ka, Warszawa.
- [41] MEREŻKOWSKI K. S. 1909. Teoria dwuch plazm kak osnova simbiogeneza, novovo uczenia o proischozdenii organizmov. Kazan.
- [42] MICHAŁSKI A. 1937. Grzybki pasożytnicze na porostach. *Acta Soc. Bot. Pol.* 14: 45–48.
- [43] MIKOŁUSZKO W. 1998. Kolonizacja ładu przez pierwsze rośliny telomowe. *Wiad. Bot.* 42: 9–20.
- [44] MORGAN-JONES G., GAMS W. 1982. Notes on hyphomycetes XLI. An endophyte of *Festuca arundinacea* and the anamorph of *Epichloë typhina*, new taxa in one of the two new sections of *Acremonium*. *Mycotaxon* 15: 311–318.
- [45] MORGAN-JONES G., WHITE J. F., PIONTELLI E. L. 1990. Endophyte-host associations in forage grasses. XIII. *Acremonium chilense*, an undescribed endophyte occurring in *Dactylis glomerata* in Chile. *Mycotaxon* 39: 441–454.
- [46] MULENKO W., MAJEWSKI T. 1996. Parasitism, parasites. W: J. B. FALIŃSKI, W. MULENKO (eds.), *Cryptogamous plants in the forest communities of Białowieża National Park. Phytocoenosis* 8 (N. S.), *Archivum Geobotanicum* 6: 37–68.
- [47] MÜLLER E., MAGNUSON J. A. 1987. On the origin and ecology of alpine plant parasitic fungi. W: G. A. LAURSEN, J. F. AMMIRATI, S. A. REDHEAD (red.), *Arctic and Alpine Mycology*. 2. *Environ. Sci. Res.* 34: 3–16.
- [48] NAFFAA W., RAVEL C., GUILLAUMIN J. J. 1998. A new group of endophytes in European grasses. *Ann. Appl. Biol.* 132: 211–226.
- [49] OKANE I., NAKAGIRI A., ITO T. 1998. Endophytic fungi in leaves of ericaceous plants. *Can. J. Bot.* 76: 657–663.
- [50] PETRINI O. 1984. Endophytic fungi in British Ericaceae: a preliminary study. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 83: 510–512.
- [51] PETRINI O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. W: J. H. ANDREWS, S. S. HIRANO (red.), *Microbial ecology of the leaves*. Springer Verlag, New York, s. 179–199.
- [52] PETRINI O., FISHER P. J. 1988. A comparative study of fungal endophytes in xylem and whole stem of *Pinus sylvestris* and *Fagus sylvatica*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 91: 233–238.
- [53] PETRINI O., FISHER P. J., PETRINI L. E. 1992. Fungal endophytes of bracken (*Pteridium aquilinum*), with some reflections on their use in biological control. *Sydowia* 44: 282–293.
- [54] PETRINI O., STONE J., CARROLL F. E. 1982. Endophytic fungi in evergreen shrubs in Western Oregon: a preliminary study. *Can. J. Bot.* 60: 789–796.
- [55] PIROZYŃSKI K. A. 1991. Galls, flowers, fruits, and fungi. W: L. MARGULIS, R. FESTER (red.), *Symbiosis as a source of evolutionary innovation*. MIT Press, Cambridge, s. 364–380.
- [56] PIROZYŃSKI K. A., DALPE Y. 1989. Geological history of the *Glomaceae* with particular reference to mycorrhizal symbiosis. *Symbiosis* 7: 1–36.
- [57] PIROZYŃSKI K. A., MALLOCH D. W. 1975. The origin of land plants: a matter of mycotrophism. *BioSystems* 6: 153–164.
- [58] PORTER J. K., BACON C. W., ROBBINS J. D. 1979. Ergosine, ergonisine, and chanoclavine I from *Epichloë typhina*. *J. Agaric. Fd Chem.* 27: 595–598.
- [59] RACIBORSKI M. 1888. Materiały do flory grzybów Polski. *Spraw. Kom. Fizyogr.* 21: 49–64.
- [60] SAGAN L. 1967. Origin of Mitosing Cell. *J. Theor. Biol.* 14: 225–275.
- [61] SCHARDL C. L., LEUCHTMANN A., TSAI H. F., COLLET M. A., WATT D. M., SCOTT D. B. 1994. Origin of fungal

- symbionts of perennial ryegrass by interspecific hybridization of a mutualist with the ryegrass choke pathogens, *Epichloë typhina*. *Genetics* **136**: 1307–1317.
- [62] SELOSSE M. A., ALBERT B., GODELLE B. 2001. Reducing the genome size of organelles favours gene transfer to the nucleus. *Trends Ecol. Evol.* **16**(3): 135–141.
- [63] SIEBER T. N., SIEBER-CANAVESI F., DORWORTH C. E. 1991. Endophytic fungi of read alder (*Alnus rubra* Bong.) leaves and twigs in British Columbia. *Can. J. Bot.* **69**: 407–411.
- [64] SIEGEL M. R., SCHARDL C. L., PHILLIPS T. D. 1995. Incidence and compatibility of non-clavicipitaceous fungal endophytes in *Festuca* and *Lolium* grass species. *Mycologia* **87**: 196–202.
- [65] SOUTHWOOD T. R. E. 1985. Interactions of plants and animals: patterns and processes. *Oikos* **44**: 5–11.
- [66] SULLIVAN R. F., BILLS G. F., HYWEL-JONES N. L., WHITE J. F. Jr. 2000. *Hypodermium*: a new clavicipitalean genus for some tropical epibionts of dicotyledonous plants. *Mycologia* **92**: 908–918.
- [67] SUN G., DILCHER D. L., SHAOLING Z., ZHEKUN Z. 1998. In search of the first flower: a Jurassic Angiosperm, *Archaeofructus*, from Northeast China. *Science* **282**: 1692–1695.
- [68] TAYLOR T. N. 1990. Fungal associations in the terrestrial palaeoecosystems. *Trends Ecol. Evol.* **5**: 21–25.
- [69] TAYLOR T. N., HASS H., KERF H. 1999. The oldest fossil ascomycetes. *Nature* **399**(6737): 648.
- [70] TAYLOR T. N., TAYLOR E. L. 1993. The biology and evolution of fossil plants, Prentice Hall. New Jersey, s. 148–231.
- [71] TSAI H. F., LIU J. S., STABEN C., CHRISTENSEN M. J., LATCH G. C. M., SIEGEL M. R., SCHARDL C. L. 1994. Evolutionary diversification of fungal endophytes of tall fescue grass by hybridization with *Epichloë* species. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **91**: 2542–2546.
- [72] VOGL A. E. 1898. Mehl und die anderen Mehlprodukte der Cerealien und Leguminosen. *Zeitschr. f. Nahrungsm. Unters. Hyg. Warenk.* **12**: 25.
- [73] WIDLER B. 1982. Untersuchungen über endophytische Pilze von *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Sprengel (Ericaceae). Diss. ETH-Zurich, s. 1–133.